



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**INFLUENCIA DE CIERTOS IONES SOBRE  
EL DESARROLLO DE UN AGENTE  
CARIOGENICO: STREPTOCOCCUS  
MUTANS.**

**TESIS PROFESIONAL  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
MARTHA FARIAS ELINOS**

**1982**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

### INTRODUCCION

#### GENERALIDADES

- 1) Diente.
- 2) Microbiología dental.
- 3) Formación de caries.
- 4) Streptococcus mutans. Aspectos generales y particulares del microorganismo.
- 5) Importancia de la administración de diferentes iones para la prevención de la caries.

#### PARTE EXPERIMENTAL

- 1) Material.
- 2) Equipo.
- 3) Reactivos.
- 4) Medios de cultivo.
- 5) Técnicas empleadas.

#### RESULTADOS Y ANALISIS

#### CONCLUSIONES

#### ANEXO A

#### ANEXO B

#### BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

En la actualidad, es un hecho comprobable de que la caries dental origina agudas repercusiones en los niveles económico y social, por lo que constituye un problema mundial de salud al que se enfrentan desde el último decenio un considerable número de investigadores. Entre los reportes recientes editados por quienes estudian la situación desde el punto de vista de la infectología, existe concordancia en aceptar a Streptococcus mutans como uno de los principales agentes etiológicos del padecimiento; por esta razón cobran especial interés en este trabajo, la búsqueda de compuestos cuyos efectos puedan inhibir su desarrollo o destruirlo sin alterar las funciones metabólicas del organismo humano, y la investigación de la relación que existe entre la presencia de este microorganismo y la enfermedad, tomando en consideración que muchos de los datos proporcionados por autores extranjeros son difícilmente reproducibles en nuestro medio debido a la diferente situación geográfica.

## II. GENERALIDADES

### 1). Diente.

Aspectos generales.

Características anatómicas comunes de los dientes

Corona.

Rafz.

Cuello.

Características fisiológicas especiales de los dientes.

Incisivos.

Caninos.

Molares.

Constitución histológica y química del tejido dental.

Esmalte.

Dentina.

Cemento.

Pulpa.

Mecanismo de mineralización.

## ASPECTOS GENERALES

Los dientes son estructuras individuales de consistencia dura y de coloración blanquecina, cuya función es reducir considerablemente el tamaño de los alimentos, para hacerlos más accesibles a la acción de los jugos gástricos. Hasta la edad de entre 6 y 7 años se encuentran 10 en cada mandíbula (dientes temporales), elevándose este número hasta 16 en el adulto (dientes permanentes). Están implantados en forma más o menos vertical, uno tras otro, en los alveolos de los maxilares, sólidamente fijos gracias al ligamento alveolodentario, que es un conjunto de fibras que van transversal u oblicuamente de la pared alveolar a la superficie del diente, constituyendo una especie de articulación (72). Los alveolos pueden ser uni o multilobulados según el número de raíces de cada pieza dentaria.

### CARACTERISTICAS ANATOMICAS DE LOS DIENTES.

Un corte longitudinal de un diente muestra las siguientes partes anatómicas:

La corona es la porción situada por encima del nivel de las encías que se observa a simple vista.

La raíz es la parte del diente que se encuentra en la cavidad ósea del maxilar.

El cuello es la región comprendida entre la corona y la raíz, en la que el diente se encuentra rodeado por el surco gingival.

## CARACTERISTICAS FISIOLOGICAS ESPECIALES DE LOS DIENTES.

Los dientes se pueden clasificar en incisivos, caninos y molares de acuerdo a la función que desempeñan.

Los incisivos están colocados en la parte anterior de los maxilares superior e inferior, son afilados y, con ayuda de los músculos maxilares, ejercen una fuerza de oclusión de 25 a 45 Kg que sirven para cortar los alimentos.

Los caninos se encuentran en ambos lados de cada grupo de incisivos, son puntiagudos y su función es la de desgarrar.

Los molares se hallan después de los caninos; ejercen una fuerza de hasta 68 y 91 Kg; su principal función es la de moler los alimentos.

Además, los dientes superiores e inferiores están provistos de criptas y cúspides, estructuras que se intercalan entre sí, de manera tal que las piezas dentales de ambas arcadas quedan ajustadas unas con otras permitiendo inclusive que las partículas pequeñas de alimentos sean atrapadas y molidas entre las superficies trituradoras, verificándose una buena masticación y por ello posteriormente, una adecuada digestión (72).

## CONSTITUCION HISTOLOGICA Y QUIMICA DEL TEJIDO DENTAL.

El corte longitudinal de un diente, muestra sus principales partes, que son: esmalte, dentina, cemento y pulpa; los tres primeros son de consistencia dura (aunque menos que el tejido óseo), mineralizados y constituyen la cubierta del cuartotejido, el cual se encuentra situado dentro de la cavidad llamada cámara pulpar (23,32).

El esmalte o sustancia adamantina cubre la superficie externa del diente; se forma aun antes de la erupción del diente, y cuando ésta se ha presentado, deja de producirse; es de aspecto vítreo, superficie brillante y translúcida (56). Esta sustancia esta formada por cristales de fosfato y carbonato de calcio incluidos en fibras de queratina (una de las proteínas más insolubles y resistentes) y por iones  $Al^{+++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ , -- etc. (43), que lo constituyen un tejido duro, siendo el más mineralizado del organismo, y por una matriz orgánica que posee proteínas y carbohidratos como galactosa y fucosa, aunque se calcifica gradualmente por ionización del medio que lo rodea y llega a aceptar elementos nuevos tales como los fluoruros que provienen del exterior, que proporcionan al esmalte mayor dureza y resistencia en todos los sentidos; es además la parte del diente que termina su calcificación antes que los otros tejidos dentarios; es escaso en la región cervical y llega a tener hasta 2 y 2.5 mm en la cúspide dental; su mineralización principia sobre la superficie coronaria y se orienta hacia la unión dentina-esmalte.

Cubriendo al esmalte del diente se encuentra la cutícula del esmalte o membrana de Nashmith, que es una fina membrana cuyo espesor varía entre 50 y 100 micras, que se considera un residuo del epitelio externo del órgano embrionario del esmalte. Presenta dos capas: la interna, que está adherida a la superficie del esmalte y se calcifica y, la externa, que se encuentra adherida al epitelio de la encía, conservándose mediante esta unión la continuidad con la cubierta mucocutánea del organismo; por su constitución química, es sumamente resistente tanto a la fricción como al ataque de los ácidos y álcalis bucales.

La dentina es el principal tejido formador del diente; contiene fosfato y carbonato de calcio incluidos en una fuerte red de fibras colágenas que lo hacen más duro, inclusive que el hueso; está cubierta por esmalte en la porción de la corona y -



por cemento en la raíz, por lo que normalmente no está en contacto con el exterior. Su mineralización principia poco antes que la del esmalte, conteniendo un 70% de sales minerales; el proceso de calcificación prosigue durante toda la vida, pero se presenta con diferente intensidad debido a factores personales o por traumatismos causados normalmente por la masticación, que producen fricción y desgaste, o bien por cambios de temperatura o la acidez del medio bucal. Dentro de la masa dentinaria hay zonas que no se calcifican o están hipocalcificadas, a las que se les llama lagunas dentinarias, y sirven para dar cierta flexibilidad a la dentina; sin embargo, estas lagunas pueden presentar un grave peligro en caso de infección cariosa porque facilitan la penetración microbiana.

El cemento es un tejido de color amarillento que cubre la totalidad de la raíz; con respecto al resto del diente es más flexible, su calcificación es menor y no es tan sensible; su espesor alcanza entre 0.1 y 1.0 mm y es el único que incluye células dentro de su constitución histológica; se considera que está dividido en dos capas: una externa (celular) y otra interna (acelular) que es compacta y mineralizada y donde se lleva a cabo la cristalización de las sales minerales en suspensión.

En el centro del diente, circundada por la dentina, se encuentra una cavidad que se conoce como cámara pulpar; consta de dos porciones (coronaria y radicular) y está ocupada totalmente por la pulpa dentinaria. Esta es el órgano vital y sensible por excelencia; está constituida por un estroma celular de tejido conjuntivo laxo ricamente vascularizado, en el que se ha comprobado la existencia de vasos linfáticos que garantizan su poder defensivo. Sus principales funciones consisten en formar dentina y nutrir y proporcionar sensibilidad al diente (72), aunque una vez que se ha encerrado dentro de la cavidad sigue formando nuevo tejido o dentina secundaria. Fig. 1

### MECANISMO DE MINERALIZACION.

En el interior de un folículo dental en estado activo donde se encuentra la matriz orgánica, existe un líquido que -- contiene disuelta gran cantidad de sales minerales entre las -- que predomina el calcio. Cuando este líquido pierde humedad -- origina que dichos compuestos inorgánicos se concentren hasta - el grado de saturarlo, presentándose su precipitación y cristalización, constituyendo así, un tejido duro con especificaciones particulares, según se trate de esmalte, dentina o cemento; y esta situación se presenta bajo circunstancias tales como la actividad evolutiva del diente y la producción de enzimas.

Cuando el diente ha erupcionado continúa su proceso - de mineralización asimilando diversos minerales que enriquecen su estructura; este mecanismo de intercambio iónico no cesa nunca, pero es considerablemente menos intenso en el diente adulto, porque su mineralización más evolucionada, origina que los tejidos sean cada vez más sólidos (23).



Fig. 1

## 2) Microbiología dental.

### Microambiente.

Cavidad bucal.

Sarro.

Película.

Placa Dental.

Mineralización.

Composición Química.

Flora bucal habitual.

Factores que afectan la microflora bucal.

Saliva.

Velocidad de flujo, viscosidad.

pH, Eh.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Lisozina.

Anticuerpos.

Corpúsculos Salivales.

Factores antibacterianos.

Edad.

Dentición.

Hábitos y dieta.

## MICROAMBIENTE

## CAVIDAD BUCAL

La cavidad oral o bucal es la primera porción del canal alimenticio que tiene relación con la digestión de los alimentos; está constituida por mejillas, paladar (duro y blando) y lengua; sus paredes laterales están formadas por las mejillas, estructuras musculares revestidas por epitelio escamoso estratificado cuya parte anterior termina en los labios; su finalidad es ayudar a retener los alimentos entre los dientes superiores e inferiores. El paladar duro está revestido por tejido fibromucoso y constituye la porción anterior del techo de la boca, mientras que el paladar blando es un tabique muscular en forma de arco ubicado entre la boca y la nasofaringe, que se encuentra revestido por una película mucosa y forma la porción posterior del techo de la boca. La lengua constituye el piso de la cavidad bucal y está compuesta de músculos que se insertan en el hueso hioides y por una membrana mucosa que la recubre, en cuya superficie hay pequeñas eminencias llamadas papilas que son los órganos del gusto.

Por estar comunicada directamente con el medio exterior, se encuentra expuesta a la introducción de muchos tipos diferentes de microorganismos procedentes del agua, alimento, aire, manos, etc, provocando así que la microflora sea numerosa y variada.

Además, puede ser considerada como una incubadora ideal para los microorganismos por tener una temperatura de 35°-36°C., gran humedad, excelente variedad de nutrientes y diversas tensiones de  $O_2$ , de tal manera que tanto las bacterias aero

bias, como las anaerobias encuentran condiciones favorables para su establecimiento, crecimiento y reproducción en mejillas, membranas mucosas, dientes, lengua, encías y surco gingival - - (56,33,72).

#### SARRO.

Estudios recientes han demostrado que la lesión cariosa es universal y que al parecer, existe una interesante relación causa-efecto entre aquella y los depósitos de sarro; por ello varios autores investigan el efecto que tienen algunos factores presentes en la saliva sobre el establecimiento de la microflora bucal y, consecuentemente con la que existe en la lesión cariosa.

Esta relación se explica considerando la formación -- del sarro: éste se forma por la impregnación de la placa dental con cristales de fosfato de calcio; estos cristales se originaron por la precipitación de los minerales que se encuentran en solución con la saliva, pero no se ha determinado con precisión el mecanismo mediante el cual se precipitan, sin embargo, hay una teoría que afirma que la pérdida de  $\text{CO}_2$  de la saliva reduce su contenido de ácido carbónico, por lo que se convierte en una solución concentrada de calcio y fósforo<sup>(28)</sup> precipitando fácilmente por el efecto alcalinizante del hidróxido de amonio producido por la acción de las enzimas salivales, formándose así la matriz del sarro, que funge como inductora de la formación de más sarro<sup>(28,56)</sup>.

Se han señalado tres etapas en la formación de sarro:

- 1) Adhesión inicial de materia orgánica e inorgánica a una superficie limpia (película).
- 2) Formación de la placa dental (dentobacteriana).

### 3) Mineralización de la placa dental.

En la primera etapa, las proteínas y lípidos salivales se adhieren al diente formando una película muy delgada alrededor de él, incorporándose también sales inorgánicas como -- fosfatos, carbonatos y cloruros.

La placa dental es una película mucinosa (mucina desnaturalizada), transparente, adherida al diente y a la encía, -- principalmente en el cuello y espacios interdentarios, formada -- por bacterias, partículas de comida, sales, agua, saliva, las -- cuales se van depositando por capas conforme pasa el tiempo. -- (7,54).

Se presenta en personas desaseadas que no se cepillan los dientes o lo hacen defectuosamente. Su formación requiere -- de una película inicial de proteínas sobre la superficie del -- diente (primera etapa) para que las bacterias se adhieran y de -- una disminución de la presión de  $O_2$  ( $P.O_2$ ), sabiendo que en con -- diciones normales los niveles de  $P.O_2$ , cerca de la glándula pa -- rótida oscilan entre 70-115 mmHg<sup>(30)</sup>.

Una vez formada la placa dental sobre la película ini -- cial comienza, a los pocos días, la mineralización de ella. -- Inicialmente se aprecian cristales pequeños en la matriz, que -- aglutinan a los microorganismos de la placa y al crecer las zo -- nas mineralizadas, las bacterias quedan atrapadas dentro de la -- matriz dura.

Para la conversión de la matriz blanda en sarro duro, con un mínimo de 75 a 80% de material inorgánico, se requieren -- aproximadamente 12 días (tiempo de formación), aunque varía de -- persona a persona, mientras que se le llama tasa de formación a -- la cantidad de sarro que se forma en un período determinado y --

es en las caras linguales de los incisivos inferiores en un --  
área de 29 mm<sup>2</sup>, de 0.086 mg de sarro/dfa.

Composición química del sarro.- El sarro dental contiene aproximadamente entre 6 y 28% de materia orgánica, con -- respecto a su peso total; entre los carbohidratos se mencionan -- al ácido siálico, galactosa, glucosa, manosa, xilosa, fucosa, -- ramosa, metil pentosas y hexosaminas, encontrándose en su mayo -- ría, en forma de glicoproteínas y mucoproteínas; los lípidos se encuentran como grasas neutras, ácidos grasos libres, coleste -- rol, ésteres de colesterol y fosfolípidos. Entre sus componen -- tes inorgánicos se encuentra en mayor proporción el calcio y el fósforo y en pequeñas cantidades magnesio, sodio, carbonatos y -- fluoruros. Dos tercios del total se encuentran en forma crista -- lina como apatita, brusita, whitloquita de magnesio y fosfato -- de octocalcio, los cuales se forman durante el proceso de mine -- ralización de la placa dental y su concentración varía según su sitio en la cavidad bucal y la edad de los depósitos (28).

#### FLORA BUCAL HABITUAL.

La microflora oral forma parte de un ecosistema muy -- complejo que varía según el sitio donde se encuentre (Tabla 1)-

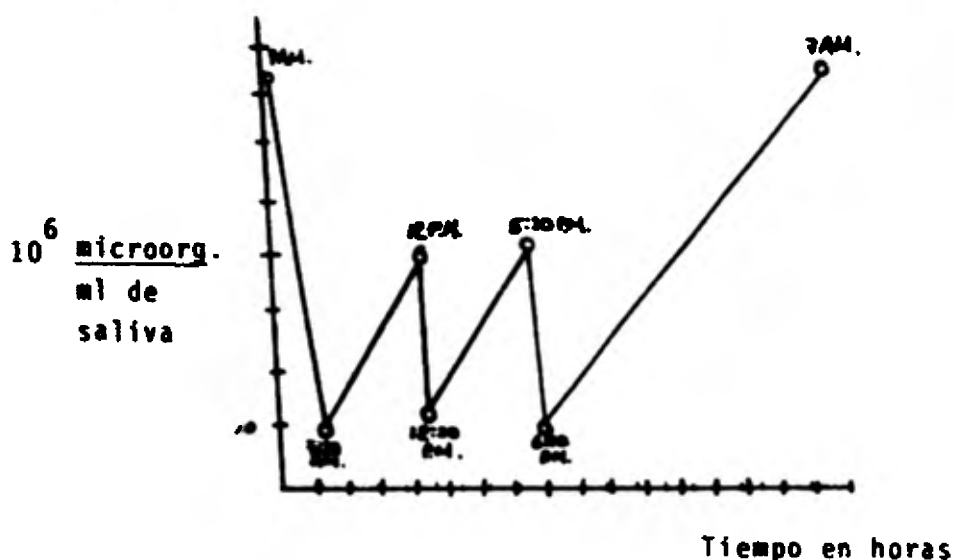


TABLA 1

Grupo de Bacterias	Placa	Lengua	Saliva	Surco Gingival
Cocos Facul. G (+)	28.2	44.8	46.2	28.8
Estreptococos	27.9	38.3	41.0	27.1
<u>S. mutans</u>	0-50	0-1	0-1	0-30
<u>S. sanguis</u>	40-60	10-20	10-30	10-20
<u>S. mitior</u>	20-40	10-30	30-50	10-30
<u>S. salivarius</u>	0-1	40-60	40-60	0-1
<u>S. milleri</u>	3-25	0-1	0-1	14-56
Estafilococo	0.3	6.5	4.0	1.7
Cocos anae. G (+)	12.6	4.2	13.0	7.6
Cocos anae. G (-)	6.4	16.0	15.9	10.7
Cocos Facul. G (-)	0.4	3.4	1.2	0.4
Bacilos Facul. G (+)	23.8	13.0	11.8	15.3
Bacilos anae. G (+)	18.4	8.2	4.8	20.2
Bacilos Facul. G (-)	ND	3.2	2.3	1.2
Bacilos anae. G (-)	10.4	8.2	4.8	16.1
Espiroquetas	ND	ND	ND	1.0

Datos expresados en porcentaje de la cuenta total cultivable. ND no detectado.

La microflora bucal varía en cuanto a número en el -- transcurso de 24 hrs., ya que se ha observado que la cuenta bacteriana es más alta en la mañana al levantarse y disminuye al ingerir el desayuno, cepillarse los dientes enjuagarse la boca; se aprecia un incremento gradual antes del alimento de mediodía repitiéndose estas alteraciones después de la comida y cena como lo muestra la gráfica:



Fluctuación diaria de la cantidad de bacterias buca-- les desplazadas por enjuague con solución salina basada en cuen-- ta de la placa viable aerobia.

Debido a las condiciones de la boca, en la saliva del adulto hay  $4 \times 10^7$  microorganismos aerobios/ml y  $11 \times 10^7$  microor-- ganismos anaerobios /ml de saliva.

La microflora de la placa dental se desarrolla debido a que la superficie del esmalte está en contacto directo con la microflora salival, formándose una película invisible de ella -- que se adhiere por medio de glicoprotefnas salivales, aislándo-- se cuando menos 27 variedades de los microorganismos <sup>(33,49,56)</sup>, los cuales crecen principalmente en los defectos de la superfi-- cie del diente desplazando al material mucoide; la placa que se desarrolla en 24 h. es más gruesa en las áreas proximales al -- surco gingival que en las superficies tersas <sup>(54,56)</sup>.

TABLA 2

Flora de la placa dental	% de Frecuencia
Estreptococos facultativos	27
Difteroides facultativos	23
Difteroides anaerobios	18
Peptoestreptococos	13
Fusobacterium	4
Neisseria	3
VIBRIO	2
Lactobacilos	0.01

Los Lactobacilos constituyen una minoría de la microflora en una boca clínicamente sana; sin embargo, se ha encontrado Lactobacillus acidophilus en gran cantidad en lesiones cariosas.

Hay especies con órgano-tropismo como, por ejemplo, los estreptococos hemolíticos que se encuentran con mayor frecuencia en las encías, faringe y amígdalas; S. mutans, S. sanguis y S. mitis, que colonizan la superficie del diente<sup>(70)</sup>, -- mientras que S. salivarius se encuentra en la saliva con una incidencia del 47% de entre todos los estreptococos presentes y S. mitior, que no tiene ninguna preferencia.

Algunos autores consideran a los microorganismos coli formes como miembros habituales de la flora bucal, aunque no -- hay datos suficientes para afirmarlo; se encuentran con una frecuencia del 32%, y de éste, el 55% corresponde a Enterobacter aerogenes y el 3.4% a Escherichia coli. Pseudomonas aeruginosa es considerada como miembro de la microflora natural de algunos individuos, encontrándose con una frecuencia del 6.6%.

Micrococcus lactilyticus se aísla en forma constante-

de la placa dental y saliva, debido a que utiliza el lactato -- (producto final del metabolismo acidógeno) que eleva el pH, tanto de la placa como de la saliva, considerándose así un microorganismo inhibidor de la caries dental.

El género *Actinomyces* se encuentra en una baja proporción en la cavidad bucal sana, pero aumenta su cantidad en individuos con lesiones cariosas, principalmente *Actinomyces viscosus*.

Se ha observado que cuando la cuenta de lactobacilos es alta, las levaduras se aíslan con mayor frecuencia, predominando *Candida* sp. y *Sacharomyces* sp.

*Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* son ejemplos de protozoarios que se han aislado de las muestras bucales, pero su frecuencia de aislamiento es baja.

#### FACTORES QUE AFECTAN LA MICROFLORA BUCAL.

No todos los microorganismos son capaces de establecerse en la cavidad bucal, sino que permanecen sólo aquellos que encuentran condiciones favorables para su multiplicación de acuerdo a su metabolismo, requerimientos nutricionales, características salivales del individuo, como el pH, enzimas, temperatura de la boca, edad, limpieza bucal etc.

#### SALIVA

Las sustancias secretadas por las glándulas salivales principalmente por las tres mayores: parótida, submaxilar y sublingual, constituyen la saliva; puede ser líquida o de consistencia viscosa, su composición varía según el estímulo que inicia la secreción; químicamente está compuesta por 99.5% de agua y 0.5% -

de solutos; entre estos últimos se encuentran sales como cloruros, bicarbonatos y fosfatos de sodio y potasio, gases disueltos y varias sustancias orgánicas como urea, ácido úrico, seroalbúmina, globulina y dos enzimas que inician el proceso digestivo como la ptilina, la cual comprende a la amilasa salival y a la maltosa y la mucina. También contiene restos celulares, bacterias y leucocitos<sup>(32,72)</sup>.

La saliva tiene varias funciones:

- 1) Lubrica y humedece la mucosa bucal y labios facilitando la articulación de la boca.
- 2) Ayuda a eliminar un gran número de restos celulares y alimenticios, tratando de evitar su depósito.
- 3) La mucina, principal enzima de la saliva, forma moco cuando se disuelve en agua, el cual humedece los alimentos facilitando su deslizamiento hacia el estómago.
- 4) La enzima amilasa cataliza la degradación de los carbohidratos en disacáridos iniciando el proceso digestivo, para lo cual se requiere la presencia de los iones cloruros que la activan.
- 5) El agua de la saliva suministra un medio para la disolución de moléculas pequeñas de carbohidratos y aminoácidos solubles, que en un momento dado pueden servir como nutrientes para los microorganismos que entran con los alimentos, aire, manos, etc., o que ya se encuentran presentes en la boca; sin embargo, a pesar de esta función, la saliva posee algunos factores que protegen a la cavidad bucal de la invasión de ellos<sup>(32, 72, 62)</sup>, y son:

**Velocidad de flujo saliva y viscosidad.-** La cantidad que se secreta en 24 hrs. es de 1000 a 1500 ml; este flujo cons

tituye un mecanismo protector, ya que evita el desplazamiento de los microorganismos hacia los conductos salivales. Existen reportes<sup>(62)</sup> que demuestran un mayor índice de infección en las glándulas parótidas, cuando hay una disminución de la velocidad del flujo salival, observándose esto principalmente en estado de choque y en deshidratación, mientras que a un aumento de dicha velocidad, hay una disminución del número de microorganismos cultivables en la saliva.

La viscosidad de la saliva está en relación con la tasa de formación de sarro, de tal manera que a mayor viscosidad se observa menos producción de sarro, debido a que el principal componente viscoso de la saliva es la mucina, la cual impide su mineralización porque ella es capaz de ligar los iones calcio.

pH, Eh.- El pH ejerce cierta acción sobre el establecimiento y desarrollo de los microorganismos. El pH óptimo para el crecimiento de la mayor parte de las bacterias oscila entre 6.5 y 7.5, el pH mínimo entre 4.5 y 5.0 y el pH máximo entre 8.0 y 8.5. Un pH bajo de 4.0 - 5.5, favorece la supervivencia y el crecimiento de tipos acidógenos y acidúricos como los lactobacilos, levaduras y algunos estreptococos e inhibe el crecimiento de los microorganismos de tipo proteolítico; los lactobacilos no sobreviven mucho tiempo en la saliva cuando el pH cambia a la neutralidad o alcalinidad<sup>(31,56)</sup>. Por estudios realizados<sup>(56)</sup> se sabe que a un pH elevado hay una alta frecuencia de anaerobios, mientras que a un pH bajo, los anaerobios se encuentran ausentes debido a que no sobrevive a este pH producido por la fermentación acidógena de los estreptococos, principalmente durante el proceso carioso<sup>(60)</sup>.

Se ha observado que cuando la concentración de sacaroza es elevada, el Eh se incrementa y el pH decrece, lo que ocurre frecuentemente en procesos cariosos, pero cuando éstos son tratados, el (Eh) disminuye y el pH aumenta<sup>(57, 60)</sup>.

Otra característica importante de la saliva es el efecto amortiguador que posee, debido a la presencia de los iones fosfatos, bicarbonatos que neutralizan y diluyen los ácidos formados en la placa dental a partir de los carbohidratos ingeridos, impidiendo de esta manera el desarrollo masivo de microorganismos acidógenos y acidúricos.

$H_2O_2$ .- Estudios recientes han demostrado que la mayor parte de las bacterias aerobias presentes en la saliva humana, forman peróxido de hidrógeno in vitro, el cual, si se acumula en algunas áreas de la cavidad bucal, debe inhibir a los microorganismos anaerobios (12, 31, 56).

La lactoperoxidasa, enzima presente en la saliva y leche, destruye a las bacterias por una reacción desconocida en la que intervienen el  $H_2O_2$  y el tiocianato ( $CNS^-$ ), que también se encuentra presente en la saliva (56).

Lisozima.- En la saliva se encuentra una enzima mucopolisacárida con actividad bacteriolítica llamada lisozima, cuyo punto isoeléctrico oscila entre un pH de 10.5 y 11.0, la cual posee diferentes actividades dependiendo de la cantidad y tipo de polisacáridos que tenga en su molécula. Las pruebas del laboratorio han indicado que esta enzima hidroliza los enlaces B(1-4) glucosídicos de los polisacáridos de la pared celular de las bacterias, produciendo su lisis, con la consecuente liberación del contenido citoplasmático, protegiendo de esta manera a la membrana mucosa de la cavidad bucal, de las infecciones. Es eficaz contra cepas de Neisseria sp., Sarcina lutea, Klebsiella sp., Streptococcus sp., Staphylococcus sp. y Mycobacterium sp.; sin embargo, por estudios realizados se sabe que la lisozima no causa lisis en Bacteroides oralis, B. melaninogenicus, Difteroides, bacilos fusiformes, Lactobacillus sp., Streptococcus mitis, Veillonella alcaliscens, Treponema microdenti-

CUM (31, 56, 72).

Anticuerpos salivales.- Se han encontrado presentes en la saliva proteínas del tipo de las globulinas, que son los anticuerpos, los cuales tienen actividad bactericida, y son la IgA, IgM, IgG; actualmente se ha demostrado la presencia de anticuerpos opsonizantes a Lactobacillus acidophilus, Streptococcus sp., Sarcina lutea <sup>(31,56)</sup>.

Corpúsculos salivales.- Se ha reportado que la cuenta leucocitaria varía de  $1.1 \times 10^3$  a  $1364 \times 10^3$  leucocitos/ml de saliva para sujetos con dientes y con una boca sana clínicamente, de  $7.7 \times 10^3$  a  $11896 \times 10^3$  leucocitos/ml de saliva para personas con encía inflamada o con caries y de  $0.1 \times 10^3$  a  $143 \times 10^3$  leucocitos/ml de saliva en sujetos desdentados con boca sana; de donde la importancia de los corpúsculos radica en la regulación de la población microbiana. La estimulación mecánica de masticar y cepillar los dientes y la actividad metabólica de los microorganismos, hace que los leucocitos emigren de los capilares al tejido conectivo bucal y después a la encía, donde actúan sobre los microorganismos, pero ponerse en contacto con la saliva se apolotonan y se tornan inactivos <sup>(56)</sup>.

Factores antibacterianos.- Otra propiedad importante que posee la saliva es el efecto bactericida y lítico sobre muchos microorganismos ya sean patógenos o no, poder destructivo - que está asociado con el antagonismo entre los organismos bucales llamada antibiosis bacteriana, la cual probablemente juega un papel importante en la selección y predominio de la flora bucal.

El equilibrio de la flora bucal puede ser cambiada -- con el uso de antibióticos así, por ejemplo, la tetraciclina -- conduce a una rápida aparición de levaduras en la boca, el uso-



de pastillas de penicilina favorece la aparición de coliformes-Gram (-); cuando la flora natural inhibida reaparece, las levaduras y coliformes disminuyen en número<sup>(31, 36)</sup>.

#### EDAD.

En el momento de nacer, la boca del humano es estéril, pero al entrar en contacto con el medio ambiente se va contaminando con varios tipos de microorganismos.

Las bacterias capaces de colonizar la boca del recién nacido son aerobias y anaerobias facultativas. Por estadísticas realizadas, se sabe que en niños de hasta 1 año de edad hay predominio de los microorganismos del género *Streptococcus*, principalmente *S. salivarius*, aunque también se manifiestan, en forma más o menos frecuente los géneros *Staphylococcus*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Actinomyces* y *Lactobacillus*.

Después de 1 año, cuando aparecen los dientes, hay un aumento de los microorganismos anaerobios como *Leptotrichia* sp., además de bacilos fusiformes, espiroquetas, *Vibrio* sp. y hace su aparición *Streptococcus sanguis* y *S. mutans*<sup>(70)</sup>.

Hay una relación de la cuenta de lactobacilos con la edad del individuo y consecuentemente con la frecuencia de la caries; en niños menores de 8 años, estos microorganismos están presentes en aproximadamente el 35% de las bocas, de 8 a 20 años se encuentran en un 85% de las bocas y en personas mayores de 20 hay una frecuencia del 50%.

En el adulto se observa que hay un predominio de los microorganismos de los géneros *Actinomyces*, *Candida*, *Sacharomyces*.

Se ha demostrado que existe una relación entre la permeabilidad del esmalte con la edad y consecuentemente de la susceptibilidad del primero al ataque de los microorganismos<sup>(18)</sup>.

#### DENTICION.

La dentición también influye en la colonización de la cavidad bucal por los microorganismos; se sabe que la dentición natural favorece el incremento de los microorganismos anaerobios, bacilos fusiformes y espiroquetas, pero con la pérdida parcial de los dientes, esta microflora persiste sólo en el lugar en que permaneció el diente. La pérdida completa de los dientes causa una inversión total de la flora, de tal manera que predomina la de tipo facultativo. Las formas anaerobias reaparecen al usar dentadura artificial.

#### HABITOS Y DIETA.

En las bocas descuidadas o enfermas, los tipos de bacterias que dominan son los anaerobios y proteolíticos, mientras que en la cavidad oral bien cuidada, la flora más abundante es aerobia, facultativa y acidógena.

Las condiciones de la boca parecen favorecer la existencia de un sistema modificado de cultivo continuo. Los nutrientes intrínsecos de la membrana mucosa y surco gingival proporcionan alimento a los microorganismos en forma más o menos constante, en tanto que los nutrientes extrínsecos que consumimos aumentan los abastecimientos intrínsecos.

3) Formación de caries.

Aspectos Generales.

Teorías de la formación de caries.

Factores que favorecen la formación de caries.

pH de la placa dental y de la saliva.

Velocidad de flujo salival.

Isozima.

Anticuerpos salivales.

Dieta.

Carbohidratos.

Proteínas.

Lípidos.

Vitaminas.

Minerales.

Estructura dental.

Sexo.

Raza.

Localización geográfica.

Tensión.

Microbiología de la caries dental.

## ASPECTOS GENERALES

La caries dental es un problema mundial de salud, ya que es una de las enfermedades humanas más difundidas y que tiene agudas repercusiones en la economía.

Es una enfermedad bacteriana que afecta a los tejidos calcificados del diente, destruyéndolos, comenzando en su superficie y progresando hacia la pulpa dental, implicando la desmineralización y posterior desintegración de la porción inorgánica o calcificada de estos tejidos duros.

Las zonas más afectadas son las fosas o depresiones de los dientes y las fisuras oclusivas de ellos, las cuales no reciben la acción limpiadora de saliva, lengua y musculatura bucal, permitiendo el almacenamiento de partículas de alimentos, bacterias, proteínas salivales y otros detritos bucales (31,56, 62).

Varios autores estiman a la placa dentobacteriana como la causa primordial de la caries dental, por lo que resulta importante su eliminación. Está constituida en mayor parte por microorganismos y células descamadas del epitelio bucal. Posee una matriz intracelular formada por glucanos, mucoides y amilopectinas, además de la composición de la placa. Las bacterias se adhieren y se fijan a la capa inicial de proteínas salivales depositadas sobre la superficie del diente y posteriormente sintetizan sus polisacáridos extracelulares, que facilitan la adherencia de más bacterias y aumentan el grosor de la placa, modificando el depósito de proteínas salivales.

Por otro lado, existen varias capas dentobacterianas -

que cambian de acuerdo a su tiempo de desarrollo y sobre todo - con la edad de los individuos; así por ejemplo, en niños y adolescentes la placa suele ser acidógena y causante de la caries dental, pero en adultos y viejos, donde hay un aumento de los niveles de urea salival, el pH es alcalino aumentando la incidencia de enfermedades periodontales (6).

#### TEORIAS DE LA FORMACION DE CARIES.

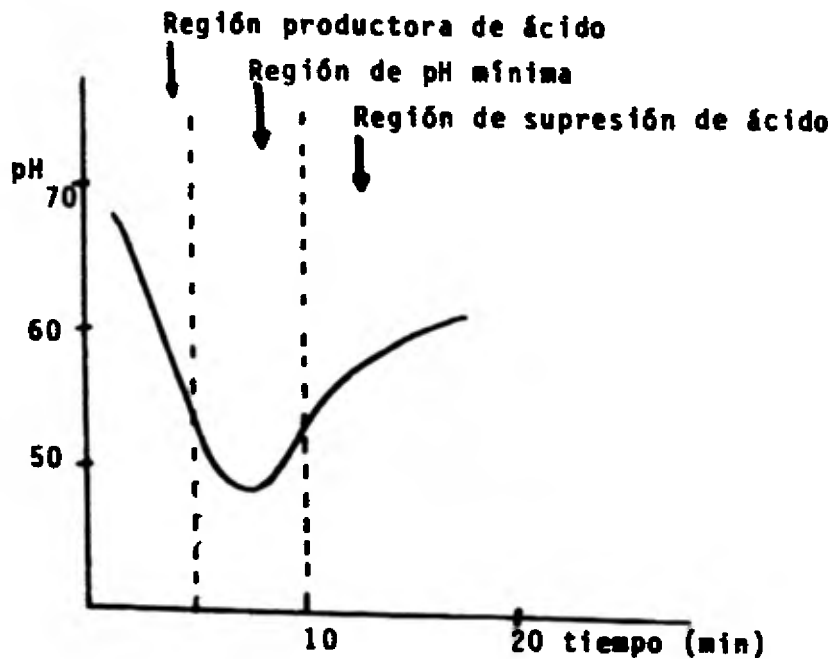
La etiología exacta de la caries dental no se conoce. Se dice que la causa es multifactorial, conjugándose varias teorías a la vez; así se encuentran la teoría ácida seguida de la teoría proteolítica, que son las más aceptadas. En la teoría ácida se habla de un ecosistema compuesto principalmente de microorganismos que se adhieren a la superficie del diente, los cuales fermentan los carbohidratos produciendo ácido láctico -- que destruye las estructuras orgánicas e inorgánicas del diente; mientras que en la segunda teoría, el primer paso es la desintegración proteolítica de la matriz orgánica por las bacterias de la placa dental; ambas teorías provocan la destrucción del esmalte, facilitando la entrada de los microorganismos que aumentan la lesión cariosa (69,56).

#### FACTORES QUE FAVORECEN LA FORMACION DE CARIES.

Una vez establecidos los microorganismos cariogénicos en la placa dental, empiezan a proliferar y a sintetizar productos metabólicos que alteran las propiedades fisicoquímicas y -- microbiológicas, tanto de la placa dental como de la saliva, -- con la consecuente aparición de la caries dental. Estudiaremos los factores que ayudan a su formación:

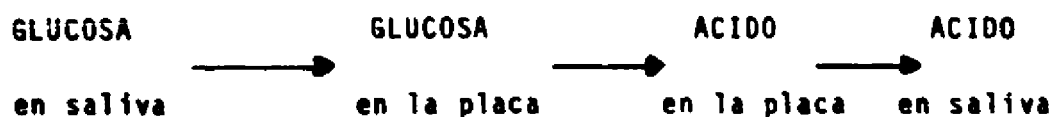
pH de la placa dental y saliva.- Una de las causas que originan una lesión cariosa es la acción del ácido sobre el es-

malte, la cual se encuentra incrementada por la alta concentración de las bacterias fermentadoras que favorecen la producción de grandes cantidades de ácido en un periodo corto de tiempo y por una difusión lenta en la saliva, acumulándose en la placa dental. Por lo tanto, entre más ácido se forme y permanezca -- por más tiempo en la superficie, habrá más susceptibilidad a la destrucción del esmalte, la cual dependerá del índice de solubilidad del fosfato de calcio, que aumentará conforme disminuye el pH, principalmente por debajo de 5.0.



Curva típica de pH en la placa dental, en respuesta a enjuague de la boca con una solución concentrada de azúcar durante unos cuantos minutos. El pH desciende cuando la velocidad de formación de ácido excede a la velocidad de eliminación del mismo; - el pH permanece en el nivel mínimo cuando aquellos factores es-

tán equilibrados y aumenta cuando la eliminación de ácido excede la formación del mismo.



Generalmente el pH de la placa de individuos con caries activa es 0.7 unidades más bajo que en los que presentan actividad menor de caries y los dientes del maxilar superior muestran un pH más bajo que los de la mandíbula.

La variación de pH de la placa también se encuentra condicionada a la presencia de otros microorganismos; así, por ejemplo, el ácido láctico producido por los microorganismos del género *Streptococcus* se puede convertir en ácido propiónico y acético (ácidos débiles) y  $\text{CO}_2$  por el género *Veillonella*, elevando el pH.

Con respecto al pH de la saliva se ha demostrado que hay poca diferencia entre el pH de pacientes resistentes a la caries y los susceptibles a ellas, observándose también que hay una mayor capacidad amortiguadora o un mayor poder combinante de  $\text{CO}_2$  en la saliva de sujetos sin actividad de caries, estando más sobresaturada de iones  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NH}_4^+$  en comparación con los individuos susceptibles a ella (31,60).

**Velocidad de flujo salival.**- Algunas investigaciones indican que la velocidad de flujo salival es inversamente proporcional a la frecuencia de caries, es decir, que a una reducción del flujo, hay un aumento de caries dental (56).

**Lisozima.**- Se ha reportado que la concentración de lisozima en la saliva está relacionada inversamente con la acti

vidad de la caries (56).

Anticuerpos salivales.- Observaciones recientes demuestran la presencia de las Igs en cantidades mayores en sujetos sin caries, que en los susceptibles a ellas. Se encontró un índice fagocitario de 20 a 60% para la saliva de individuos libres de caries y de 0% para los que tienen actividad cariosa (5).

Dieta.- Se ha determinado que la alimentación influye en el proceso carioso modificando el medio ambiente bucal y, por lo tanto, el desarrollo, crecimiento y estructura del diente, ya sea directamente con el estancamiento de alimentos o indirectamente con la acción de las secreciones salivales que modifican a los nutrientes absorbidos en el tracto alimenticio.

La dieta humana está constituida principalmente de carbohidratos, protefnas, lípidos, vitaminas y minerales.

a) Carbohidratos.- Actualmente hay datos suficientes que establecen una relación entre la cantidad de carbohidratos consumidos (específicamente del tipo refinado) con la frecuencia de caries dental; sin embargo, esta relación no es absoluta ya que se ha observado que un consumo en cantidades considerables de otro tipo de carbohidratos no causan un gran incremento en la incidencia de caries, lo que sugiere que el carbohidrato refinado -sacarosa- es el más cariogénico de los azúcares y el factor más determinante en la producción de la enfermedad (43), aunque esto depende de la presencia obligada de una flora microbiana acidófila y acidúrica, capaz de colonizar la superficie del diente y formar la placa dentobacteriana cuando coincide con determinadas características constitucionales y genéticas del propio diente que pueden favorecer o dificultar este proceso y de la frecuencia con que se lleva a cabo el consumo -



de alimentos que contienen la sacarosa (2). Tabla 3 y 4.

TABLA 3

Contenido de sacarosa en promedio	
Dulces	37.1%
Galletas	27.8
Chicles	65.9
Refrescos	4.3
Cereales	25.0

TABLA 4

Nombre	Clasificación	Componentes	Fuentes principales
Glucosa	monosacárido		uva
Fructosa	monosacárido		frutas, miel
Galactosa	monosacárido		unido a otros azúcares
Sacarosa	disacárido	glu + fru	caña de azúcar, re molacha
Lactosa	disacárido	glu + gala	leche
Maltosa	disacárido	(glu) <sub>2</sub>	cebada
Almidón	polisacárido	(glu) <sub>n</sub>	plantas
Celulosa	polisacárido	(glu) <sub>n</sub>	plantas
Glucógeno	polisacárido	(glu) <sub>n</sub>	hígado

Los hidratos de carbono constituyen un grupo de sustancias esenciales en la dieta del ser humano, cuyo valor principal radica en que proporcionan al organismo la fuente más importante del potencial energético, que es indispensable para el mantenimiento de las funciones metabólicas de las células y de la homeostasis tisular.

b) Proteínas.- No se han reportado datos suficientes para demostrar que hay una frecuencia baja de caries asociada con una aportación elevada de proteínas o viceversa.

c) Lípidos.- Recientemente se ha estudiado una posible relación entre las grasas ingeridas en la dieta humana y la caries dental. Algunos estudios realizados señalan un efecto cariogénico bajo del chocolate en comparación con el de caramelo, lo cual se debe al alto contenido de grasas en el chocolate, -- que disminuye los efectos cariogénicos del azúcar. Sin embargo, esto no se ha generalizado por falta de datos.

d) Vitaminas.- Se ha realizado una serie de estudios en animales de laboratorio, que nos indican que hay una relación entre la deficiencia de vitamina A, complejo B y la aparición de lesiones cariosas. La vitamina que más se ha estudiado en relación con la aparición de caries dental, ha sido la vitamina D que administrada en forma de Aceite de Hígado de Bacalao o Ergosterol irradiado, produce una reducción de la frecuencia de caries en niños menores de 13 años pero no en mayores, lo -- cual se explica porque la absorción del ion calcio por el organismo, necesita de la presencia de dicha vitamina.

e) Minerales.- Hay pruebas que nos indican que los minerales de la dieta pueden ser importantes para modificar la frecuencia de caries, así, por ejemplo, el vanadio y molibdeno están relacionados con una frecuencia baja de caries y el selenio

con una alta incidencia, observándose que en los dientes cariosos hay un aumento notable de la concentración de magnesio y -- fierro en el esmalte.

Se sabe del efecto de algunos elementos sobre la solubilidad de la hidroxiapatita, tales como el estroncio (29), boro, litio, molibdeno, fluor, que disminuyen su solubilidad con la consecuente disminución de la mineralización del esmalte dental y por lo tanto con una baja frecuencia de lesiones cariosas (31,39), y que la presencia en el esmalte de los iones calcio, zinc, fosfato, incrementan la adsorción de la fosfatasa ácida (enzima que hidroliza ésteres de ácido fosfórico) a la placa -- dental, aumentando su acción enzimática e inhibiendo el proceso carioso, mientras que los iones magnesio y fluoruro tienen un efecto nulo sobre ella (64). Se ha observado también que tanto el zinc como el cobre inhiben la producción de ácido sobre la placa en un 27-28% y que el molibdeno y litio no tienen ninguna acción inhibitoria (10).

Estudios realizados muestran que una proporción carbohidrato / fosfato elevado durante el desarrollo del diente, se relaciona con una elevada frecuencia de caries dental; pero se ha notado que la adición de un 3% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en la dieta reduce la frecuencia de caries (31).

Estructura dental.- El esmalte de los dientes aumenta su dureza conforme avanza la edad, protegiendo las estructuras internas de la invasión de microorganismos; sin embargo, es susceptible a los ácidos producidos por los microorganismos acidúricos. Cuando el pH disminuye a 5.2 ó menos, los ácidos descalcifican las estructuras inorgánicas, pero la placa dental, a -- través de sus propiedades amortiguadoras, ejerce una acción protectora contra los ácidos producidos.

La acción protectora de la dentina se debe a la formación de una dentina esclerótica en el interior de los túbulos y de una dentina secundaria que recubre la extremidad de ellos, - formando una barrera contra la invasión bacteriana de la pulpa (31,56).

Además, la morfología dental también afecta la susceptibilidad a las caries, ya que una superficie con fosas y depresiones, particularmente la de las superficies oclusivas permiten el desarrollo de bacterias acidúricas (Fig. 2).

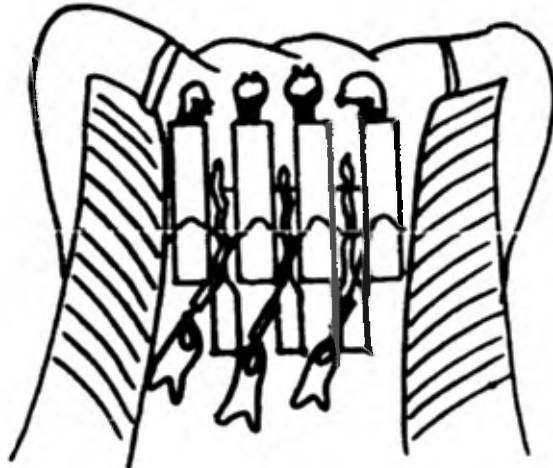


Fig. 2

Respuesta de la pulpa al proceso de caries con la formación de dentina esclerótica en el interior de los túbulos. Esta formación actúa como barrera contra la invasión microbiana de la pulpa.

**Sexo.-** Por investigaciones realizadas se ha observado que el sexo femenino tiene mayor índice de DMF (caries activa, pérdida del diente, dientes obturados) que el sexo masculino y esta observación es independiente de la edad (62).

**Raza.-** La experiencia ha comprobado que hay una menor prevalencia de caries en los individuos de raza negra, en compa

ración con los de la raza blanca (62).

**Localización geográfica.**- Este factor influye por la mayor o menor cantidad de sales de Ca, P, F, en los alimentos y en el agua, en una región determinada. Estos elementos permitirán la formación de tipos de calcificación más resistentes y mejores (31,62).

**Tensión.**- Al realizar experimentos con animales de laboratorio se observó que los que eran sometidos a traumatismos psíquicos desarrollaban considerablemente más caries dental que el grupo control (31,62).

#### MICROBIOLOGIA DE LA CARIES DENTAL.

Se afirma que la caries dental es una enfermedad bacteriana debido a que ella no ocurre en ausencia de bacterias; además, también es multifactorial y aunque el factor etiológico es la bacteria, existen tres factores fundamentales llamada triada de Keyes, que interactúan y son:

- 1.- La bacteria acidógena.
- 2.- El sustrato fermentable.
- 3.- El diente susceptible.

Se ha comprobado que sólo aquellos microorganismos que pueden formar rápidamente ácidos y mantener niveles de pH bajos en la placa, serán capaces de producir caries.

Existen principalmente tres grupos de bacterias responsables de este tipo de proceso:

- 1) Lactobacilos.
- 2) Formas actinomicetales.

### 3) Formas estreptocóccicas.

**Lactobacilos.**- Bacilos Gram (+) pleomórficos, microaerófilos, inmóviles, no esporulados, acidófilos, acidógenos y -- acidúricos. Probablemente son las cepas homofermentativas las que producen únicamente el ácido láctico, el que es de gran poder descalcificante; los representantes principales son L. acidophilus y L. casei, encontrándose especialmente en áreas de los dientes que han tenido muy poco contacto con la saliva, acumulándose lactato en ellas.

**Actinomicetales.**- En lesiones cariosas de la raíz se ha logrado aislar e identificar con mayor frecuencia a las especies Actinomyces viscosus, A. naeslundii, A. eriksonii. Son formas filamentosas Gram (+), teñidos irregularmente, no móviles, no esporulados, con ramificaciones verdaderas en V y T; fermentan varios azúcares produciendo ácido; son gas, indol y ureasa negativos; sintetizan levanas, principalmente A. viscosus; son anaerobios facultativos, pero desarrollan en una atmósfera con 10% de CO<sub>2</sub>.

Los individuos con caries activa también tienen una mayor incidencia de Candida sp. y Veillonella sp., lo que indica que las condiciones en la boca de estos individuos favorecen -- la presencia de un mayor número de microorganismos acidógenos.

**Estreptococos cariogénicos.**- Se denominan estreptococos cariogénicos a un numeroso grupo de estreptococos capaces de producir caries dental in vivo; algunos lo hacen con gran rapidez y otros con más lentitud. La mayor dificultad en clasificar a estos microorganismos es la falta de uniformidad en sus características bioquímicas (18,24,41,64,65), de cultivo y en su estructura antigénica y porque la característica cariogénica puede aparecer o perderse sin razón aparente; sin embargo, com-

parten características comunes como la forma de cocos con agrupación en cadenas, Gram (+), anaerobios facultativos, desarrollan en 10% de CO<sub>2</sub> por 24 hrs. a 37°C., fermentan varios carbohidratos con producción de ácido láctico en mayor cantidad con respecto a los otros estreptococos. Se les ha agrupado dentro del grupo viridans (24), considerando dentro de él a Streptococcus mutans, que es el que tiene mayor relación con la caries dental, sobre todo en las superficies lisas (45).

4) Streptococcus mutans. Aspectos Generales  
y particulares del microorganismo.

Generalidades.

Clasificación.

Características microscópicas.

Características macroscópicas.

Estructura química.

Resistencia a agentes físicos.

Resistencia a agentes químicos.

Resistencia a agentes microbiológicos.

Clasificación inmunológica y serológica.

Aislamiento, cultivo y requerimientos nutricionales.

Diferenciación metabólica, bioquímica y fisiológica.

Diagnóstico del Laboratorio. Identificación bioquímica.

Mecanismos de patogenicidad. Mecanismos involucrados -  
en la formación de caries.

Polisacáridos extracelulares.

Polisacáridos intracelulares.

Bacteriocinas.

Aspectos inmunológicos.

Relación de la edad y dieta con la frecuencia del mi-  
croorganismo.

Infecciones en el hombre causadas por el microorganis-  
mo.



## GENERALIDADES

Streptococcus mutans es uno de los principales agentes-etiológicos de lesiones cariosas, que se encuentra en la cavidad bucal, aunque también se le puede aislar con menor frecuencia de dientes sanos, saliva, heces y sangre (34); es capaz de colonizar la boca a partir de la erupción de los dientes situándose principalmente en el área gingival y en las fisuras de la superficie dental (20), prefiriendo el segundo molar sobre el primero (19), donde las condiciones especiales y nutrientes-específicos (carbohidratos) favorecen su desarrollo y reproducción (24).

## CLASIFICACION

Debido a que la boca funciona como una incubadora, crecen en ella una gran variedad de microorganismos por lo que es necesario realizar una completa identificación de S. mutans, -- siendo este microorganismo el que tiene mayor relación con la formación de caries.

De acuerdo al Manual de Bergey's, S. mutans se clasifica como sigue:

Clase	Schizomycetes
Orden IV	Eubacteriales
Parte	14
Familia X	Lactobacillaceae
Tribu 1	Streptococacceae
Género	Streptococcus
Especie	<u>Streptococcus mutans</u>

Pertenece al mismo grupo de S. viridans, dentro del - - cual también encontramos a otros estreptococos presentes en la cavidad oral como S. salivarius, S. mitis, S. sanguis, S. milleris, S. mitior, S. uberis, los cuales comparten algunas características en común (24, 33), como su morfología macroscópica y microscópica.

#### CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

S. mutans es un microorganismo esférico, no esporulado, inmóvil, Gram (+), dispuesto en cadenas de longitud variable, - su reproducción es por fusión celular (33, 56).

#### CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS

El crecimiento en medio sólido se caracteriza por formar colonias relativamente grandes y con hemólisis tipo  $\alpha$  en - gelosa sangre, circulares, elevadas y convexas, de bordes enteros, con superficie lisa, pero al secarse se transforma en una colonia rugosa y con textura membranosa y dura.

#### ESTRUCTURA QUIMICA

En la figura (3) se presenta un esquema de las estructuras de la superficie de una célula de S. mutans (33).

La composición química de la pared celular consta de - ácido glutámico, alanina, lisina, glucosamina y ácido murámico - y en algunos serotipos (a, d, g) tienen treonina y  $\alpha$  alanina -

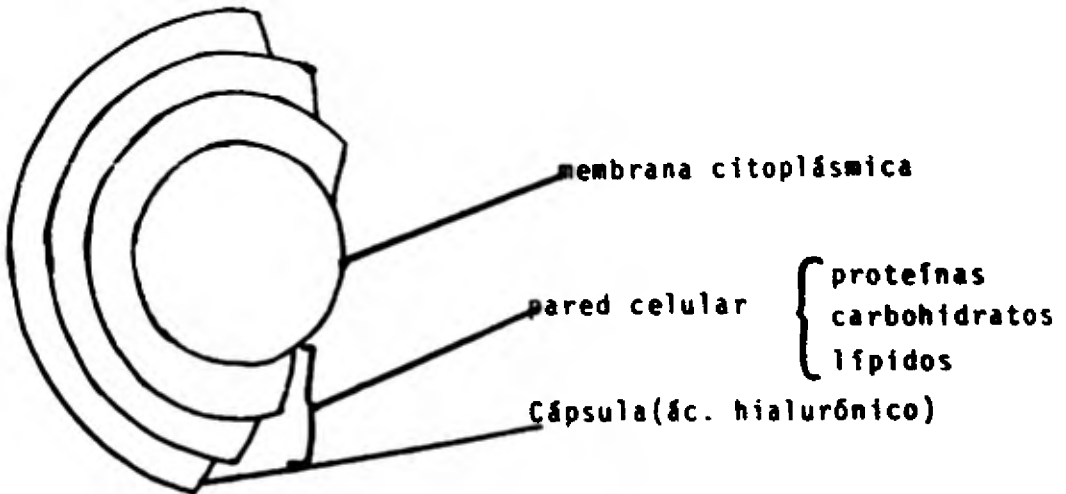
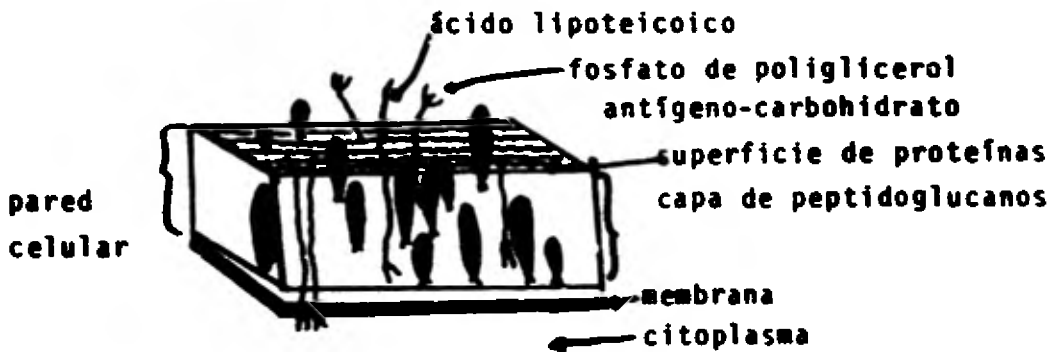


Fig. 3

en los enlaces interpeptídicos (21). Fig. 4.

Fig. 4 Esquema de la pared celular de *S. mutans*.

La proteína M, presente en la pared celular, es el - -  
 único inmunógeno protector, el principal determinante de su vi-  
 rulencia y la que brinda a este microorganismo la capacidad de-

adherirse y colonizar la superficie dental.

Se ha observado que la mayoría de las cepas de S. mutans carecen del carbohidrato C y que en el mínimo de las cepas que lo presentan se encuentra en la pared celular.

#### RESISTENCIA A AGENTES FISICOS

S. mutans es un microorganismo muy sensible a temperaturas bajas y elevadas, la óptima para su crecimiento y reproducción es de 37°C., es sensible a la desecación.

#### RESISTENCIA A AGENTES QUIMICOS

S. mutans posee la característica de ser un microorganismo osmófilo por su capacidad de resistir altas concentraciones de sacarosa de hasta un 20-40% p/v, propiedad que se emplea para lograr su aislamiento de otros microorganismos.

Por otro lado, es resistente a varios antibióticos, como a la bacitracina y a la sulfadimetina, que se emplea en algunos medios de cultivo para su aislamiento (33, 55, 75); a la penicilina y eritromicina en concentración mínima inhibitoria - 0.1 ugr / ml; lincomicina, metilcelina, vancomicina, tetraciclina y gentamicina en concentración de 0.1 ugr / ml; neomicina, estreptomina, kanamicina y polimixina B, en concentración de 10 a 400 ugr / ml (21).

La resistencia a estos antibióticos depende de su tiempo de exposición y la etapa de crecimiento en la que se encuentra el microorganismo; las bajas concentraciones de penicilina causan una inhibición rápida de la síntesis de peptidoglucanos, seguida de la inhibición del RNA de la síntesis de proteínas -- (21, 55), y la kanamicina es capaz de reducir pero no de inhibi--

bir por completo el desarrollo de S. mutans cuando se aplica tópicamente sobre una oclusión en el esmalte con caries (7).

También hay cierta susceptibilidad de los serotipos -- hacia los antibióticos, como por ejemplo, el serotipo a es sensible a la bacitracina, el a y el b a la polimexina, el d a la metilcelina y el e es resistente a la eritromicina, lincomicina tetraciclina y penicilina.

#### RESISTENCIA A AGENTES MICROBIOLÓGICOS

Se ha comprobado que Bacteroides melaninogenicus es -- una de las bacterias predominantes en la placa subgingival y en la bolsa paradóncica, mientras que la colonización de S. mutans es menor en esta región que en la supragingival; esto se explica por la presencia del pigmento negro elaborado por B. melaninogenicus, llamado hematina (ferriprotoporfirina- que resulta del desdoblamiento de la hemoglobina por causa de esta bacteria), que es responsable de la inhibición de S. mutans. Actualmente se ha observado que la hematina comercial de los mismos resultados (13).

También se ha notado que existe cierto antagonismo entre las cepas de estreptococos orales, principalmente entre S. mutans y S. salivarius, porque éste último es capaz de producir además de ácido láctico, ácido acético que tiene propiedades antimicrobianas. Al mismo tiempo que se ha observado la existencia de cepas de este género productoras de  $H_2O_2$  (17).

#### CLASIFICACION INMUNOLOGICA Y SEROLOGICA

La manera más eficaz de indentificar a estos microorganismos es, sin duda, por el empleo de métodos inmunológicos -- con base en la presencia de los antígenos de la pared celular, -- principalmente del carbohidrato C y de la proteína M, Lance----

field realizó su clasificación enumerando a los grupos con letras mayúsculas de la A a la O (21). Sin embargo, un gran número de autores discuten a que grupo pertenece S. mutans debido a que la mayoría de las cepas carecen del carbohidrato C, como ya se explicó anteriormente; pero por existir un número muy pequeño de ellas que lo tienen y que dan reacción positiva con el suero anti E, se dice que pertenecen al grupo E de Lancefield - (18, 24, 27, 33).

A través de una serie de estudios serológicos realizados a S. mutans aislados de lesiones cariosas, se sabe que existen 7 serotipos diferentes que se designan de la a a la g - - (33, 34, 35, 51, 70, 71), los cuales se encuentran agrupados en 4 genotipos, el a, el b, el d y g y el c, f y e, de acuerdo a las características bioquímicas que comparten. (TABLA 5).

En las lesiones cariosas, el serotipo que con mayor -- frecuencia se encuentra es el c, (90%) (26, 51, 66) y algunos - autores imputan este hecho a la existencia de factores presentes en la saliva que actúan favoreciendo la colonización de la cavidad bucal, mientras que evitan el establecimiento del serotipo a, el cual se encuentra con una frecuencia mínima (26,33,- 51, 70).

Los grupos serológicos de S. mutans son detectados mediante las pruebas de aglutinación, empleando tanto sueros específicos, como lectinas (sustancias extraídas de las semillas de algunas plantas que resultan activas como aglutininas), las cuales reaccionan específicamente con los diferentes azúcares residuales de los polisacáridos y glucoproteínas superficiales de la pared celular de los serotipos de S. mutans: la Conavalina-A reacciona con los residuos  $\alpha$ D glucopiranosil y  $\alpha$ D manopiranosil de los serotipos a, d, f y g, aglutinándolos después de 2 hrs. de incubación; la lectina obtenida de la planta Persia --

americana actúa sobre el serotipo g; la aglutinina de la planta Ricinus communes reacciona con los residuos de la galactosa de los serotipos a, d y g (33, 18).

Además, este microorganismo también puede ser identificado y tipificado por técnicas inmunofluorescentes y por opsonización.

TABLA 5

Clasificación de los serotipos de *S. mutans*.

		a	b	c	d	e	f	g
FERMENTACION	Manitol	+	+	+	+	+	+	+
	Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+
	Melibiosa	+	+	+	-	+	+	-
	Rafinosa	+	+	+	-	+	+	-
	Esculina	+	+	+	-	+	+	-
	Inulina	+	+	+	+	+	+	+
Hidrólisis	Arginina	-	+	-	-	-	-	-
	Esculina	+	+	+	+	+	+	+
	Polisac. a partir de glucosa	+	+	+	+	+	+	+
	Peroxidasa	+	-	-	+	-	-	+
	Hemólisis	δ	γ	γ	δ	γ	γ	δ
	Bencidina al 0.01% en G. S.	-	-	-	col negra	-	-	negra
	Aglutinación	-	-	-	1 hr desp.	-	-	1 hr desp.
	40% no aglutina	-	-	18 hrs desp.	-	18 hrs desp.	16 hrs desp.	-
	Colonia			pequeña rugosa - adherente.	Zoogleica en PSA	pequeña rugosa adherente.	pequeña rugosa adherente.	Zoogleica en PSA



## REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES, CULTIVO Y AISLAMIENTO.

Debido a que la boca funciona como una incubadora, crecen en ella una gran variedad de microorganismos, entre los que destacan los pertenecientes al grupo de S. viridans, como S. mutans y otros ya nombrados, por lo que se hace necesario el empleo de varios medios de cultivo selectivos para el aislamiento de S. mutans, que es el microorganismo que tiene mayor relación con la formación de caries de entre los estreptococos mencionados, lo cual es de vital importancia por su valor diagnóstico.

Los medios de cultivo no selectivos empleados para el crecimiento de este microorganismo son:

gelosa sangre  
 gelosa sangre sacarosa (MA1, BA5)  
 tripticasa, levadura, cistina (TYC)  
 medio 10 (MMIOSB)

Mientras que entre los medios de cultivo selectivos y diferenciales para S. mutans están (14, 20, 21, 22, 26, 34, 68, 47, 27, 37):

mitis salivarius agar (MSA)  
 mitis salivarius + 1% de telurito de potasio (MST)  
 mitis salivarius - telurito + 20-40% de sacarosa (MSS)  
 mitis salivarius - telurito-sacarosa + 0.2 U de Bacitracina (MSB)  
 medio de Carlson + 1% de sulfasoxazola (MC)  
 medio MFC  
 medio SA  
 medio enriquecido con vitaminas y minerales

Sin embargo, existen reportes de que para efectuar la elección del medio más adecuado deben considerarse situaciones como las siguientes: en gelosa sangre, BA1, BA5, crecen todos -

los serotipos (21, 47), mientras que en MST, HMIOSB, TYC, MS, - MSB, MS40S, sólo lo hacen algunos (47), así el serotipo c no de sarrolla en TYC; el a por ser sensible a altas concentraciones de sacarosa y a la bacitracina no crecen en MSB (5), en el medio de SA se pueden aislar hasta  $10^3$  UFC (unidades formadoras - de colonias ) de S. mutans, de una muestra que contenga  $10^{10}$  -- microorganismos diversos.

Algunos autores opinan que el telurito de potasio adicionado al MSA produce una reducción del 6% del número de UFC - del serotipo d, y un 25% del b, aun cuando otros autores aseguran que esto no afecta el crecimiento de ninguno de los serotipos (68).

De todos estos medios de cultivo, el que más se emplea en el laboratorio de investigación para el aislamiento de S. mutans es el mitis salivarius agar adicionado de 1% de telurito - de potasio, 20% de sacarosa y 0.2 U/ml de bacitracina (MSB), al cual se le considera selectivo y diferencial, utilizando preferentemente el elaborado por los laboratorios Difco, por lograrse con mayor éxito el aislamiento de este microorganismo que en el de BBL, en el que algunas cepas son marcadamente inhibidas - (68), lo cual, además de poner de manifiesto la dificultad para realizar la elección del medio más adecuado, demuestra la exigencia del microorganismo en cuestión.

S. mutans es un microorganismo facultativo, sin embargo requiere ser incubado por ~~24-26~~ hrs., en una atmósfera de 90% - de  $N_2$  y 10% de  $CO_2$  a una temperatura de  $37^\circ C.$ , en sus fases - lag y log para lograr su primo aislamiento y permanece viable - en condiciones aerobias a temperatura ambiente por 72 hrs (38).

Una vez que S. mutans ha desarrollado bien en los medios de cultivo selectivos (MSA), se distinguirá fácilmente por

por sus características macroscópicas por ser sus colonias de color azul, elevadas, circulares, relativamente grandes, húmedas, de crecimiento rápido, duras, lisas y brillantes, pero después de 5 días se tornan rugosas y opacas.

#### DIFERENCIACION METABOLICA, BIOQUIMICA, FISIOLOGICA DE S. mutans

Los estreptococos orales pertenecientes al grupo de S. viridans comparten características en común, como son las microscópicas y la sensibilidad a la penicilina, por lo que es importante la diferenciación bioquímica de ellos, sobre todo de la especie S. mutans que es, como se ha mencionado, uno de los agentes causales de la caries dental (24, 64, 65). (TABLA 6 y 7).

TABLA 6

Clave para la identificación de <i>S. viridans</i> .	
Prueba empleada	microorganismo
-Fermentación de manitol y lactosa en ácido. -Hidrólisis del hipurato, no sintetiza glucanos de sacarosa:.. <i>S. uberis</i> -No hidroliza el hipurato, síntesis de glucanos de sacarosa:..... <i>S. mutans</i>	
-Fermentación de lactosa pero no de manitol -Fermentación de la inulina -Síntesis de glucanos a partir de sacarosa, liberación de amoniaco a partir de arginina, hemolítico:..... <i>S. sanguis I</i> -Síntesis de glucanos sólo en agar sacarosa, no libera amoniaco de la arginina, no hemolítico:..... <i>S. salivarius</i>	
-No fermenta la inulina -Hidrólisis de la esculina..... <i>S. -NS tetra-</i> <i>dim.</i> -No hay hidrólisis de la esculina -Fermentación de la rafinosa:..... <i>S. sanguis II</i> -No hay fermentación de la rafinosa:..... <i>S. nitis</i>	
-No fermenta manitol ni lactosa -Hidrólisis del hipurato:..... <i>S. acidomin-</i> <i>ans</i> -No hay hidrólisis del hipurato -Hidroliza la esculina, crece en 40% de bilis, reduce débilmente la leche tornasolada:..... <i>S. anginosus-</i> <i>constellatus</i> -No hidroliza la esculina, no crece en 40% de bilis, no reduce la leche tornasolada:..... <i>S. orobillo-</i> <i>rum</i>	

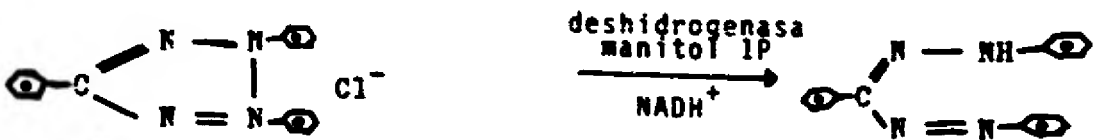
TABLA 7

PRUEBA	MICROORGANISMOS AISLADOS									
	<i>S. m-</i> <i>tans</i>	<i>S. m-</i> <i>ris</i>	<i>S. san-</i> <i>guis I</i>	<i>S. sali-</i> <i>varius</i>	<i>Stre-</i> <i>ptococ-</i> <i>cus</i> <i>MG-12</i> <i>terme-</i> <i>dus</i>	<i>S. san-</i> <i>guis II</i>	<i>S. mi-</i> <i>tis</i>	<i>S. ab-</i> <i>sin-</i> <i>gona-</i> <i>falla-</i> <i>lia</i>	<i>S. muc-</i> <i>illor-</i> <i>um</i>	<i>S. sci-</i> <i>entim-</i> <i>us</i>
Hemólisis										
alfa	59	57	94	10	45	95	92	40	50	40
Beta	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No	29	43	6	90	55	5	8	60	50	60
Tolerancia a										
bilis esculina	27	0	2	1	15	0	0	0	0	0
Azul de metileno										
en leche	1	0	9	2	11	7	7	7	0	0
10°C	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0
45°C	42	0	63	69	48	60	40	22	13	0
6.5% NaCl	4	57	0	0	2	2	3	0	0	0
8.0% NaCl	44	86	28	21	34	18	14	18	1	0
2.0% NaCl	97	86	95	98	94	91	79	87	33	20
10% Bilis	71	100	73	59	68	34	28	49	0	100
40% Bilis	50	100	42	28	52	16	14	38	0	100
0.1% Telavirto	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1% Terrazolin	26	0	2	2	14	1	2	4	0	10
Reacción en la										
leche torresol	100	100	99	94	100	100	100	100	0	16
Hidrólisis de										
arginina	1	40	64	0	26	21	16	24	0	33
esculina	90	86	77	91	100	0	0	73	0	0
hipurato	0	57	0	0	0	0	0	0	0	100
Almidón	3	57	56	7	23	30	33	20	9	0
Formación de áci-										
dos, manitol	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Sorbitol	98	86	12	0	0	0	0	0	0	0
Inulina	99	71	100	100	0	0	0	0	0	0
Lactosa	99	100	94	89	100	100	100	0	0	0
Maltosa	85	86	45	95	18	100	0	9	0	0
Sacarosa	100	100	99	100	100	100	100	100	62	20
Trifosa	100	86	95	88	73	38	25	64	11	40
Salicina	92	100	91	88	84	28	28	60	4	0
Melibiosa	38	86	38	19	18	92	1	6	0	0
Arabinosa	0	57	0	0	0	0	0	0	0	0
Glicerol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reacción en caldo										
con 5% de sacarosa	0	0	38	0	3	17	3	0	0	0
gel parcial	88	0	34	0	7	26	7	0	0	0
No	12	100	28	100	90	57	90	100	100	100
Reacción en agar										
al 5% de sacarosa	75	0	80	11	10	44	12	0	0	0
adherente										
irregular	21	0	4	0	2	5	1	0	0	0
Adherente, poco										
adherente	0	0	0	55	1	0	0	0	0	0
No adherente										
sucoso	4	100	16	34	87	51	87	100	100	100

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO, IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE

S. mutans

Una identificación presuntiva de S. mutans es el cambio de coloración que presentan las colonias de azul a lila, -- por la reducción del cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio en presencia de manitol.

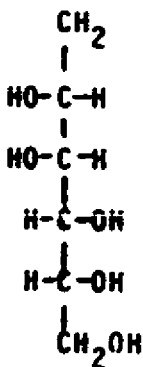


cloruro de 2,3, 5-trifenil tetrazolio

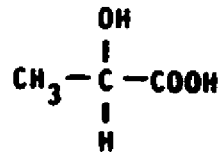
formazán

Para llegar a una completa identificación de S. mutans se utilizan pruebas bioquímicas y metabólicas, tales como:

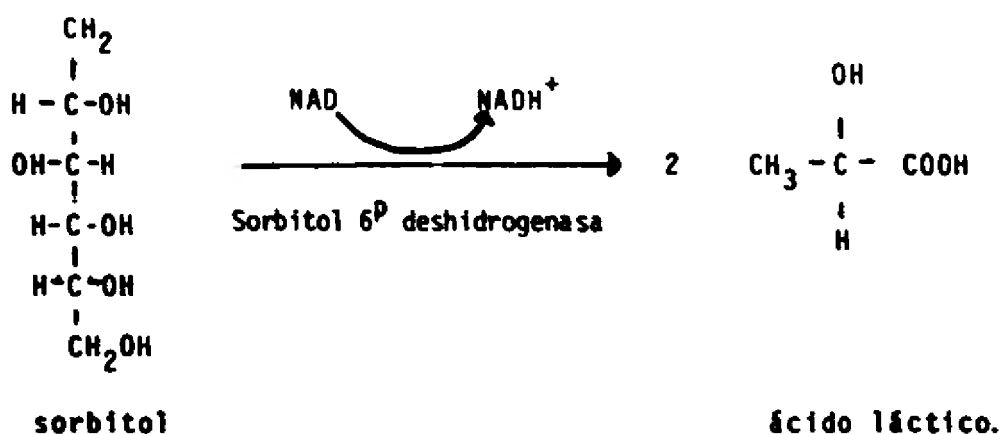
a) La fermentación del manitol y del sorbitol dependientes de la reducción del  $\text{NAD}^+$  por la manitol IP deshidrogenasa y la sorbitol 6P deshidrogenasa, respectivamente (24, 33, 53, 59).



manitol



ácido láctico



b) En condiciones de baja tensión de  $\text{O}_2$ , utiliza la -sacarosa a una concentración del 5% para la síntesis de polisacáridos extracelulares, formando una malla de ellos que se adhiere a la pared del tubo.

Las reacciones ácidas de a) y b) le dan la característica a este microorganismo de ser la especie más acidogénica -- del género (33, 53, 59).

c) Es catalasa negativo. Cuando se le agrega al medio de cultivo hemina, el microorganismo es capaz de producir la hemoproteína para sintetizar la catalasa.

#### MECANISMOS DE PATOGENICIDAD. MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA FORMACION DE CARIES

La caries es un estado patológico de los dientes y para su formación requiere de: la presencia de microorganismos -- acidógenos principalmente el S. mutans, debiendo estar presente en la saliva en una concentración mínima de  $10^3$  UFG (19, 71), -- para ser capaz de colonizar el diente; de una película de dextranas que revista a la hidroxiapatita y de proteínas ácidas de la saliva que sirvan como puente de unión entre los dos, ejerciendo fuerzas electrostáticas, necesitándose de la presencia -

del catión calcio para llevarse a cabo tal efecto, a diferencia de los iones  $\text{PO}_4^{3-}$ , y  $\text{F}^-$  que la suprimen (3, 46).

Ya establecido S. mutans empieza a sintetizar polisacáridos extracelulares (de especial importancia en la formación de la placa dental) e intracelulares, utilizando como sustrato principal a la sacarosa.

Los polisacáridos extracelulares son: las fructanas, - formadas por fructosa unidas por enlaces  $\beta(2 \rightarrow 6)$ ,  $\alpha(2 \rightarrow 6)$  y  $\beta(2 \rightarrow 1)$  fructo-furanosido, (este último llamado levana), requiriéndose para su síntesis de la enzima fructosil-transferasa -- (FTasa) y los glucanos, formados de polímeros de glucosa unidos por enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  y  $\alpha(1 \rightarrow 3)$  glucosídicos por acción enzimática de la glucosil-transferasa (GTasa), llamándose dextranas a los glucanos con uniones  $\alpha(1 \rightarrow 6)$ ; esta enzima que es -- sintetizada por S. mutans, permite la adherencia de los polisacáridos a la superficie del diente (e in vitro a la superficie del vidrio) (58, 33, 46, 59, 53), y algunos autores han indicado que esta unión también depende de la concentración de ácido glutámico (33, 52), y de ácido aspártico (8). Sin embargo, hay reportes que indican que la presencia de altas concentraciones de maltosa y lactosa inhiben in vitro la adherencia de S. mutans a la superficie del vidrio (33, 50).

Estos polisacáridos se forman principalmente en lugares de la cavidad bucal donde hay condiciones de baja tensión de  $\text{O}_2$  favoreciendo así la síntesis de dextranas a partir de la sacarosa y su adherencia a la superficie del diente. También para dicha síntesis se requiere de la presencia de la enzima invertasa, que hidroliza a la sacarosa en fructosa y glucosa; es activada por fosfatos inorgánicos, requiriéndose muy pequeñas cantidades para su actividad, su peso molecular es de 47000 a 48000 daltones (59), su localización intracelular implica la presencia de un sistema de sacarosa permeable, aunque también -



existe una invertasa extracelular; la fracción soluble de la -- primera, es diferente en cada uno de los serotipos, pero la de e, f y g tiene una estructura similar. FIG. 5

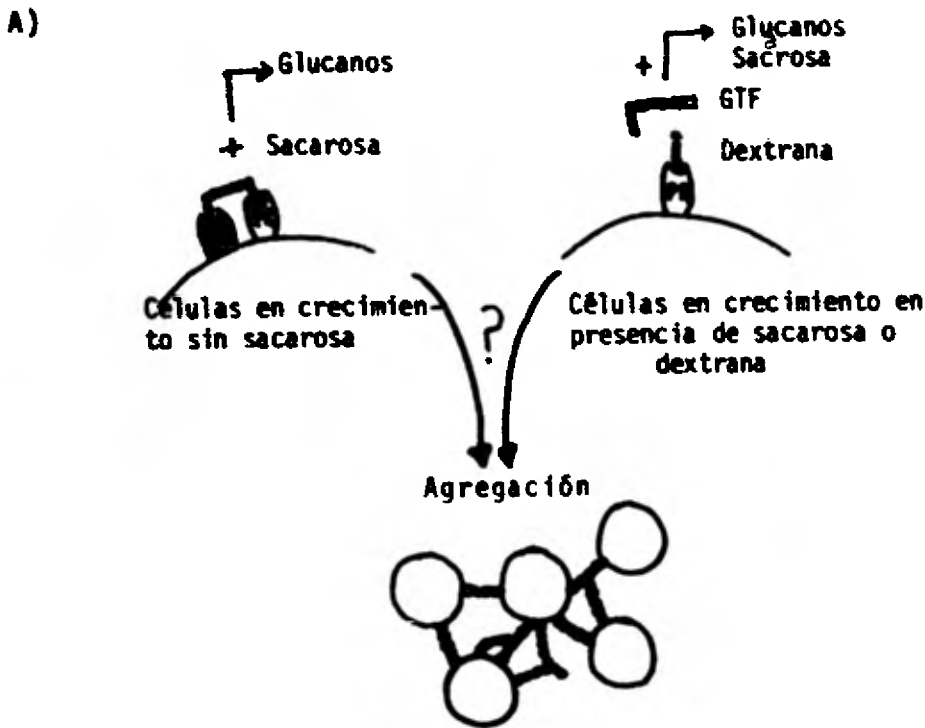


FIG. 5 Modelo simplificado de la adherencia a superficies duras y agregados de Streptococcus mutans.

Pr- protefna.

Ps- polisacárido.

A) La enzima GTF se une a la protefna y a los polisacáridos receptores en ausencia de la síntesis de glucanos o dextranas. La adición de sacarosa induce la síntesis de glucanos - insolubles y consecuentemente la adherencia.

B) Se requiere de la dextrana para su enlace a la superficie celular, subsecuentemente la glucosa insoluble dependiente de la sacarosa, se adhiere.

C) La síntesis de glucanos insolubles o dextranas induce la agregación de células de S. mutans - placa dental.-

Además, la mayoría de las cepas de S. mutans también - producen polisacáridos intracelulares, sobre todo el serotipo - c, que son, al igual que los extracelulares, polímeros de glucosa, pero éstos están formados por uniones  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) y  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) requiriéndose para su síntesis de las enzimas ADPglucosa piro-- fosforilasa y de la ADP glucosa glucógeno pirofosforilasa que - son dependientes del pH externo, ya que cuando hay un exceso de ácido láctico formado a partir de los polisacáridos internos, - se produce a partir del ácido, etanol y ácido acético; estos -- polisacáridos son susceptibles a la acción enzimática de la ami - lasa, son almacenados en forma de gránulos dentro del citoplas- ma y su síntesis depende de las condiciones de cultivo en las - que se encuentran (18,33).

Tanto los polisacáridos extracelulares como los intra- celulares son utilizados posteriormente como sustrato para la - producción de ácido, que ataca al esmalte del diente (18); para tal efecto, se requiere de varias enzimas tanto del microorga-- nismo como las presentes en la saliva (dextranasa, amilasa, le- vanasa, etc.) (33, 59), que rompen los enlaces de los polisacári- dos quedando libres las glucosas, cuando así lo requiera para - sus necesidades energéticas, fermentándolas con producción de - ácido láctico exclusivamente por la vía homoláctica y requirién- do de las enzimas glucosa fosfotransferasa y piruvatocinasa no- sólo para el transporte de la glucosa, sino también para el del manitol, lactosa, sorbitol ya que a través de estas vías metabó- licas obtiene la energía necesaria (ATP); sin embargo, se ha re- portado que la presencia en el medio de D  $\alpha$  desoxiglucosa inhi- be dicho transporte (18, 33, 61) y de esta manera disminuye el ácido láctico producido aumentando el pH de la placa dental - - (61).

Cuando el pH disminuye, la relación glucosa / G6P se incrementa notablemente decreciendo los intermediarios intracelulares, excepto la glucosa 6 fosfato y la fructosa 6 fosfato, pero la acumulación de estos dos compuestos a un pH ácido, origina la inhibición de la enzima fosfofructocinasa debido a que la relación F6P / FDN aumenta, con lo que se concluye que el decremento de la vía de la glucólisis a un pH ácido es causada por la inhibición del sistema fosfotransferasa; sin embargo, S. mutans es uno de los microorganismos que a un pH ácido consume más glucosa y produce más ácido láctico que los otros estreptococos orales debido a que su enzima fosfotransferasa es más resistente a este pH que la de los otros, propiedad que la hace más acidúrica (8, 44), y por lo tanto tener un elevado potencial cariogénico además de presentar un alto porcentaje de producción de glucanos (59, 74).

Al igual que los factores anteriores, el potencial Z también influye en la formación de la caries dental y depende del pH de la saliva y cargas presentes sobre la superficie de S. mutans (46), ya que hay reportes indicando que los aniones multivalentes y cationes divalentes no tienen ninguna influencia sobre dicho potencial, mientras que los cationes multivalentes lo disminuyen como por ejemplo Ga, Ce, La, Th (57). Sobre la superficie del microorganismo hay grupos aniónicos y catiónicos, dominando los aniones a un pH neutro debido a que la mayoría de las cepas tienen sobre su superficie un número muy elevado de grupos  $\text{COO}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , en condiciones fisiológicas, pero cuando el pH decrece, las partículas adquieren menos carga negativa y un potencial neto positivo (57, 60).

Cuando el pH de la superficie del estreptococo bajo al rededor de 5, el potencial Z debe ser tal que pueda poner en contacto a los microorganismos con la superficie sólida del diente trayendo como consecuencia (57):

a) La formación de agregados de bacterias, los cuales pueden ser eliminados de la saliva por deglución o por adsorción a varias superficies, lo cual está en relación con el área y volumen del diente por atacar.

b) Que la bacteria deba seleccionar dentro de la boca la superficie por atacar, o sea donde tenga más contacto y donde la repulsión iónica sea menor.

c) Y que la fuerza de adhesión incremente los puentes poliméricos, disminuyendo las cargas superficiales del microorganismo influyendo en su capacidad para colonizar varios sitios de la cavidad oral.

Todo esto sugiere que el potencial superficial del estreptococo depende de la composición del medio en que se encuentra, pH, contenido de cationes y aniones, reportándose que a un pH neutro, el potencial Z generalmente oscila entre  $\pm 15$  mv. - (57).

## BACTERIOCINAS

Una de las razones por las cuales se encuentra a *S. mutans* en mayor proporción en lesiones cariosas, es la propiedad que tiene de producir una bacteriocina, que en este caso se llama mutacina, la cual es una protefina del tipo de la colicina que mata a otras bacterias incluyendo *Actinomyces viscosus* y a varias cepas de estreptococos de los grupos de Lancefield A, C, D, G, L, O, e inclusive a varios serotipos de *S. mutans* como a, b, e, d, sabiendo que el serotipo c es el que con mayor frecuencia la produce y ésta puede ser una de las razones por la cual se encuentra en mayor proporción en las lesiones cariosas.

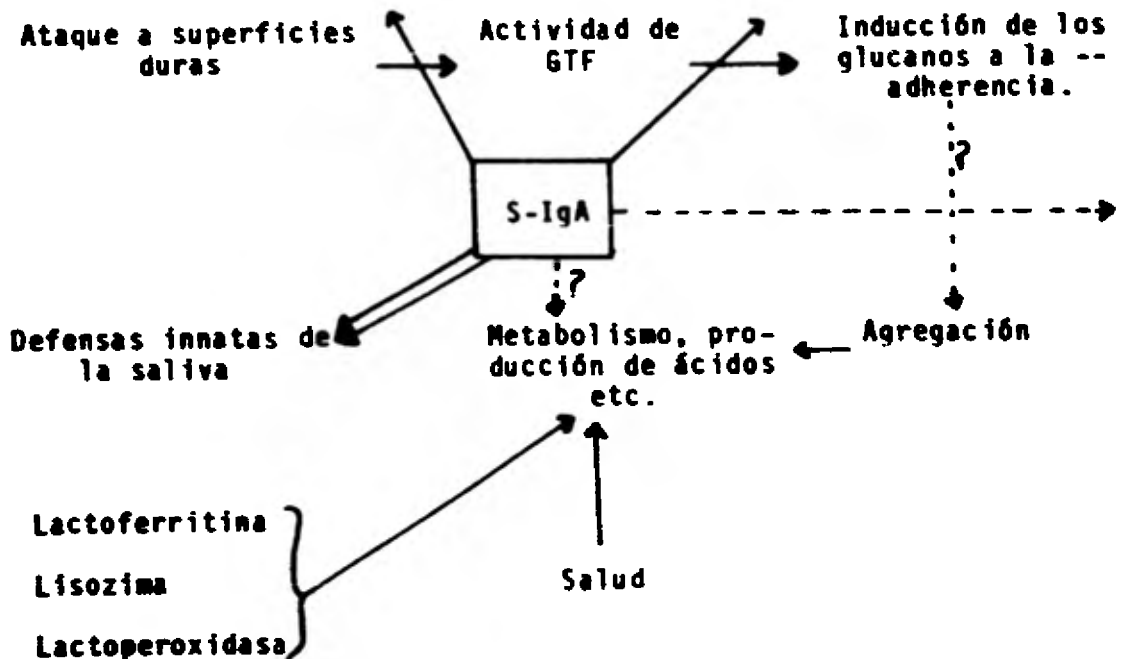
La mutacina requiere de un agente estabilizante como agar, agarosa, almidón, dextrana, glicerol; es estable al calor

y tiene dos clases de componentes activos con pesos moleculares diferentes (33, 67).

## ASPECTOS INMUNOLOGICOS

Se ha observado que hay una respuesta inmunológica --- frente a *S. mutans*, representada por los anticuerpos IgG, IgA, IgM. Sin embargo, la principal protección a la caries dental la da la IgA, ya que se ha observado que pacientes con disminución de esta inmunoglobulina, tiene una gran susceptibilidad a la caries y en estos casos la IgM la sustituye (5, 12, 21, 31, 56). Debido a esto, es posible identificar mediante reacciones inmunológicas con IgA, a los serotipos a, b, c, e y g aun cuando pueden presentarse reacciones cruzadas.

### Virulencia de *S. mutans* y la inmunidad



Mecanismo posible de la IgA para inhibir la virulencia de *S. mutans*

#### RELACION DE LA DIETA Y EDAD CON LA FRECUENCIA DE S. mutans.

Se ha experimentado que una dieta rica en carbohidra--tos aumenta los niveles de S. mutans en la placa dental, mien--tras que una dieta pobre en ellos los disminuyen, aumentando --los de S. sanguis (33, 56, 59).

En estudios recientes se ha observado que el 70% de --las lesiones cariosas tienen presente a S. mutans, mientras que en el 70% de las fisuras libres de caries, no existe. Con res--pecto a la edad, es más frecuente encontrarlo en adultos que en niños y entre los niños, en la edad de 11 a 14 años es mayor --que entre los menores de 7 (19).

A S. mutans inicialmente se le puede localizar en un --sólo sitio, pero después es posible encontrarlo en otros sitios lejanos debido al transporte del microorganismo a través de la--saliva, del mal cepillado de los dientes, al uso de la seda den--tal o a través del excavador dental empleado por los dentistas--al efectuar un examen (49, 20, 53).

Existen reportes que indican que la presencia de ami--noácidos alifáticos como N-metiltetradecilamina, hexadecilamina, dodecilamina, N-etildodecilamina, octilamina, treonina y lisina (52), inhiben la colonización de S. mutans sobre la placa den--tal.

#### INFECCIONES EN EL HOMBRE CAUSADAS POR S. mutans.

Se ha observado que a S. mutans, además de su probable papel como agente etiológico de lesiones cariosas, también se --le considera como agente causal de endocarditis por haber sido--aislado con una frecuencia del 50% en estos casos; se piensa --que se deba a que al situarse en la cavidad oral, a través de --

la mucosa pasen a torrente sanguíneo y de aquí se establezcan - a nivel de corazón, observándose que existe una relación de frecuencia en ambos sitios (33, 54, 64). TABLA 8

TABLA 8

Frecuencia de <u>S. mutans</u> en varios sitios del organismo humano	
Sangre	64 1
Endocarditis bacteriana	16
Pneumonia, Meningitis	16
Abscesos del cerebro	0
Fluido pleural y peritoneal	0
Fluido cístico y vesicular	2
Orina	2
Placa dental	50
Espuito	2

5) Importancia de la administración de diferentes iones para la prevención de la caries

Aspectos Generales

Fluor	F
Cobre	Cu.
Calcio	Ca.
Zinc	Zn.
Hierro	Fe.
Cadmio	Cd.
Niquel	Ni.
Aluminio	Al
Yodo	I
Sulfato	$SO_4^{2-}$
Cloruro	$Cl^-$
Bicarbonato	$HCO_3^-$



## ASPECTOS GENERALES

Al realizar una serie de investigaciones sobre la composición química del esmalte de la pieza dental, se encontraron trazas de algunos elementos, aproximadamente 25, entre los cuales están: Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Al, Fe, V, etc., que oscilan entre una concentración de 10 a 8 000 ppm. y que influyen en las propiedades fisicoquímicas del esmalte para disminuir la susceptibilidad frente al ataque de los ácidos.

Se han efectuado pruebas con los 25 elementos encontrados en el esmalte dental, observando que estimulan o inhiben el crecimiento de microorganismos cariogénicos como S. mutans; así, por ejemplo, el F, V, Mn, Cu, Zn, Se, Ag, Cd, Sb, Ba, Sn, (19,27), presentan un efecto inhibitorio sobre algunos aspectos metabólicos del microorganismo, cuando las pruebas se realizan a su máxima concentración; generalmente estos elementos elevan el pH original 1 ó 2 unidades en el medio de cultivo, en tanto que presentan un menor efecto inhibitorio el Be y Si que a una concentración de 440 ppm, lo incrementan 0.58 unidades (27), - - mientras que el Mo y Li no tienen ningún efecto (10).

TABLA 9

Elemento	Rango de conc. en esmalte ppm	Conc del elem. en el experimento con <u>S. mutans</u> ppm	S = sensible R = resistente a cualquier concentración
F Fluor	400-1600	1000 100 0	S S
V Vanadio	0.1-14.4	125 12.5 0	S S
Mn Manganeso	2.6-468	500 50 0	S S S
Ni Niquel	0.4-270	100 10 0	S S
Cu Cobre	13-1260	200 100 50 0	S S S
Zn Zinc	61-5400	400 0	S
Se Selenio	2.9-72	50 0	S
Sr Estroncio	9-76-632	10 000 1 000 0	S S
Ag Plata	0.2-396	150 30 0	S S
Cd Cadmio	0.6-7.6	2 0	S
Sb Antimonio	1.1-90	100 10 0	S S
Ba Bario	0.8-432	400 0	S
Fe Hierro		> 30	S
Al Aluminio		> 10	S
Ca Calcio			R

## Fluor (F)

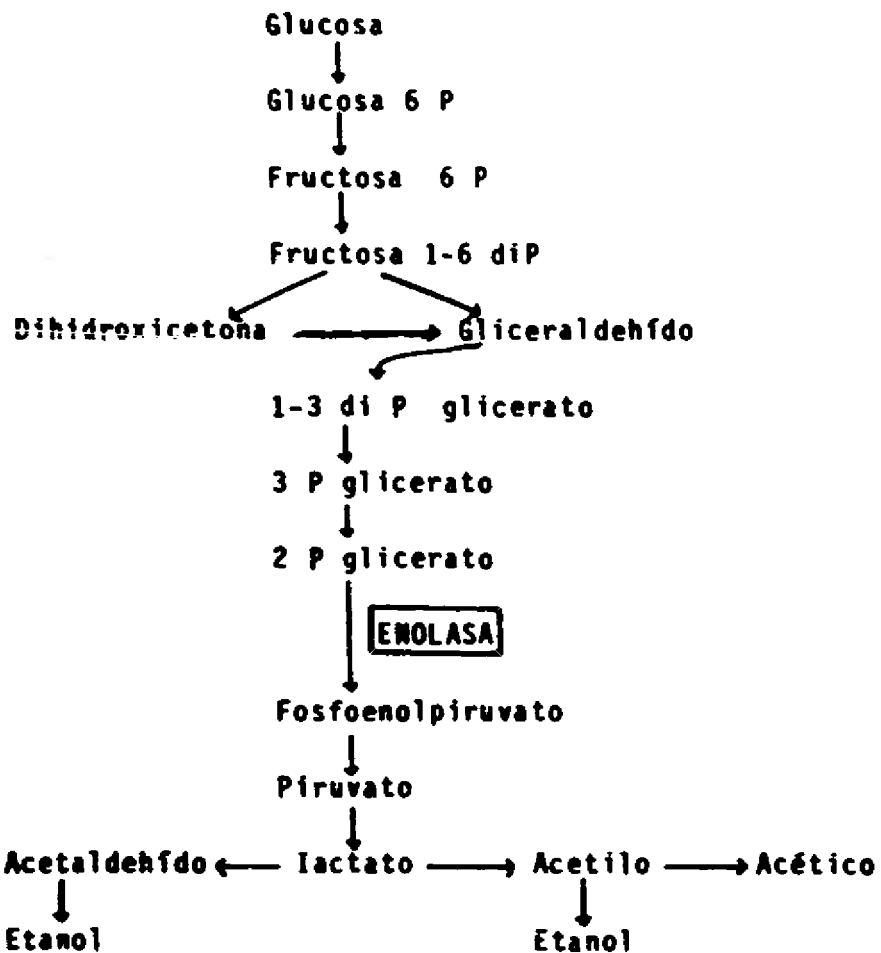
Los huesos y el esmalte de los dientes de los mamíferos contienen cantidades pequeñas de fluoruro de calcio, el cual es insoluble y está fijado a la red cristalina de la apatita.

El diente en desarrollo se encuentra bañado por los fluidos corporales, por lo que es muy probable que en el período que precede a la erupción, se incorpore el ion fluoruro a la estructura del esmalte y en su período de crecimiento, se incorpore a la red cristalina por la absorción o por intercambio iónico con el ion hidroxilo presente en la red, lo que acontece exclusivamente a nivel superficial. El contenido de fluoruros de la capa de esmalte dental, es máxima en su parte más externa y disminuyen bastantes sus niveles en las capas más profundas-- (16).

La acción del fluoruro es doble; en primer lugar reduce la solubilidad de la hidroxiapatita (40), la cual se encuentra en relación inversa a su contenido en fluoruro, así entre mayor cantidad de este ion posea, más resistente será el diente a la caries dental. Se acepta, en general, que la erosión de la estructura del diente conocida como caries, se produce como consecuencia de la solubilidad de los fosfatos en medio ácido, provocando la liberación del ion fluoruro, que actúa como veneno protoplasmático, al anular la acción de la enzima bacteriana formadora de ácidos.

Se acepta que el fluoruro inhibe la producción de ácido láctico debido al efecto inhibitorio sobre la enzima enolasa que participa en la vía glucolítica, por lo tanto, este ion inhibe el transporte de la glucosa a través de la pared celular causada por el bloqueo de la producción del fosfoenol piruvato,

sabiendo que S. mutans utiliza el fosfoenol piruvato dependiente del sistema de la fosfotransferasa para el transporte de la glucosa al interior de la célula. Los estudios indican que 1.9 ppm de fluoruro causan el 38% de reducción del transporte de glucosa. Sin embargo, se ha demostrado que hay cepas de S. mutans que son capaces de almacenar rápidamente 1900 ppm. de  $F^-$  sin que se altere su metabolismo (9,36,39,52). Además, su efecto sobre dicho metabolismo depende del pH, ya que la sensibilidad de las células al fluoruro se incrementa cuando el pH disminuye (36).



Hay un efecto inhibitor del fluoruro sobre la producción de glucanos extracelulares, que se pone de manifiesto sólo a concentraciones mayores de 100 ppm. (36,66).

Se sabe que la administración de dosis elevadas de  $F^-$  trae como consecuencia que varias cepas de S. mutans se vuelvan resistentes.

A 75 ppm. de $F^-$	no hay efecto inhibitorio sobre el crecimiento de <u>S. mutans</u>
a 150	se reduce el número de colonias
a 300 y 600	se inhibe el crecimiento por 6-8 hrs. respectivamente, actuando como bacteriostática.
a 9500 y a 19000	actúa como bacteriostático por 5 min. (3,9).

Además, se ha demostrado que la fluoración del agua es una buena medida sanitaria; a la concentración de 1 ppm. del ion fluoruro, se reduce la incidencia de caries en un 50-60% (15,25, 73). Sin embargo, la presencia del fluoruro en el agua de beber, a una concentración de 2-5 ppm produce manchas y decoloraciones en el esmalte dental debido a una interacción con el sistema enzimático de calcificación. Pero la ausencia completa de fluoruros, particularmente durante los primeros 10 años de vida, aumenta la incidencia de caries dental (1); sin embargo, hay algunos autores (16) que indican que el fluoruro administrado en el agua de beber como suplemento desde el nacimiento, no influye apreciablemente en la colonización por este microorganismo, ya que, cuando en la saliva no hay niveles superiores de 0.05% de este ion, S. mutans se encuentra presente en la flora cultivable en 1% (40).

Hay evidencias recientes que sugieren que el fluoruro administrado tópicamente en concentración relativamente alta, cambia la interacción adhesiva entre la hidroxipatata y S. mu-

tans.

El compuesto de fluoruro que más se emplea es el NaF, pero existen otros compuestos que actúan sobre el metabolismo de S. mutans, como el tetrafluoruro de titanio que se utiliza para restaurar amalgamas, que disminuye el número de microorganismos en el área restaurada (58).

El SnF<sub>2</sub> también se aplica tópicamente, al igual que el NaF, sólo que tiene el inconveniente que mancha los dientes de negro cuando se aplica abundantemente (1,16).

#### Cobre (Cu).

El cobre es un ion necesario para la absorción óptima y metabolismo de hierro, la eritropoyesis y la formación del hueso. Forma parte integral de varias enzimas en donde actúa como cofactor; por ejemplo, de la ascórbico oxidasa, citocromo-oxidasa, tirosinasa, ceruloplasmina y en general de las metaloproteínas. Este ion tiene la propiedad de precipitar a las proteínas, por lo que funciona como astringente cuando se aplica a las membranas mucosas, además de ser activo contra todo tipo de microorganismos actuando como fungicida y bactericida (15, 40), y tiene un efecto inhibitorio en la producción de ácido sobre la placa dental (10).

Un humano adulto ingiere aproximadamente entre 2.5 a 5.0 mg diarios, aunque parece ser que sólo 2 mg diarios son suficientes para mantener un buen balance metabólico. Se estima que el total de cobre en el cuerpo humano es de 100 a 150 mg/50 Kg de peso corporal o de 140 a 210 mg/70 Kg, de los cuales entre 13 y 1260 ppm. se encuentran en el esmalte dental (1,15, 27,63).

La sal más empleada es el CuSO<sub>4</sub>, cuyo valor terapéutico se debe

a sus propiedades irritantes, astringentes, antisépticas, anti-helmínticas, usándose en el tratamiento de úlceras y como antídoto del fósforo.

Al ingerir 25 mg de  $\text{CuSO}_4$  se producen trastornos como la hemocromatosis, cirrosis e inclusive leucemia.

### Calcio (Ca)

Es el 5º elemento en importancia de los presentes en el cuerpo humano; es indispensable para la función normal neuromuscular, la permeabilidad celular, la coagulación de la sangre y caseína, el buen funcionamiento cardíaco y sirve para activar algunas enzimas como la deshidrogenasa de succinato y la trifosfatasa de adenosina.

Las necesidades corporales de calcio son cubiertas por los alimentos y sus fuentes principales son los productos lácteos; la ingestión de calcio oscila entre 200 y 1500 mg/día de los cuales sólo el 33% se absorbe debido a la presencia del ion fosfato, que al combinarse con el calcio forma un compuesto insoluble. Cerca del 99% del calcio presente en el organismo se encuentra depositado en los huesos y dientes, en estos últimos en forma de apatita y brushita formando una red cristalina con otros elementos.

El  $\text{CaSO}_4$  es la sal más utilizada; se espolvorea en las pústulas de la viruela por tener propiedad bactericida, se emplea en hemorragias internas, pleuritis exudativa y tuberculosis de las glándulas.

Cuando existen concentraciones mayores, como 11gr, se altera el sistema neuromuscular. El  $\text{CaCl}_2$  irrita a los tejidos produciendo úlceras, principalmente en el tubo digestivo donde-

se suele administrar con un emoliente.

### Zinc (Zn)

El Zinc es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de plantas y animales; actúa principalmente sobre la piel, en la osteogenesis y madurez sexual en el macho, además - de obrar como cofactor de enzimas como la deshidrogenasa carbónica, fosfatasa alcalina, ureasa, alcohol deshidrogenasa; se emplea como antiséptico y astringente por precipitar a las pro-tefnas protoplasmáticas (1,40); incrementa la adsorción de la fosfatasa ácida sobre el esmalte (64) e inhibe la producción de ácido sobre la placa dental (10).

La cantidad aproximada que el humano ingiere es de 10- a 15 mg diarios, pero su absorción es pobre. Se ha calculado -- que un hombre con un peso de 70 Kg contiene 1400 a 2300 mg, distribuidos la mayor parte en el páncreas; el esmalte dental - sólo contiene de 61 a 5400 ppm. (22,40,63).

Las sales de zinc administradas por vía oral no son -- fácilmente absorbidas por el tracto digestivo. El  $ZnSO_4$  se emplea ampliamente como antibacteriano local, astringente y emético, en forma de pomadas y soluciones para la conjuntivitis, ac-né, lupus eritematoso e impétigo y como desodorante antihidrótico (16). El  $ZnCl_2$  también se emplea como antibacteriano y as-tringente, se aplica una solución al 10% en los dientes para -- tornarlos menos sensibles al ataque de los ácidos, su ingestión irrita la mucosa por lo que no se administra oralmente (16).

Una dosis de 225 a 450 mg de Zn diarios tiene efectos- eméticos en el adulto, produciendo deshidratación, desequili- - brio electrolítico, dolor estomacal, letargo y falla renal. Su deficiencia produce una mineralización pobre de huesos y dien--



tes, lesiones en la piel y disminución de linfocitos circulantes.

### Hierro (Fe)

El hierro es un elemento importante para las metalloproteínas, como por ejemplo la hemoglobina, mioglobina y algunas enzimas de óxido-reducción, como la citocromo oxidasa, catalasa y peroxidasa (1,16).

Se ingieren aproximadamente de 15 a 18 mg de hierro -- por día, de los cuales sólo de 0.5 a 1.5 mg/día se absorben a nivel del intestino delgado (63), siendo transportada por la transferrina y así, un adulto tiene en su organismo de 4000 a 5000 mg/70 Kg, de donde el 60-70% de esta cantidad se encuentra en la hemoglobina y cerca del 20% en lugares de almacenamiento de hierro (16,63).

Los compuestos de hierro son utilizados como suplemento mineral en las dietas; el ion  $Fe^{++}$  se emplea principalmente en el tratamiento de anemias porque se absorbe fácilmente, mientras que el ion  $Fe^{+++}$  tiene la propiedad de ser astringente y también hemático.

Todos los preparados de hierro pueden causar la muerte, principalmente en los niños, produciendo necrosis gastrointestinal, cianosis, hematemesis y colapso cardiovascular, observándose que una administración mayor del 1gr de  $FeSO_4$  causa estos -- efectos, mientras que en adultos la ingestión de cantidades mayores de 50 gr producen inclusive la muerte (1).

### Cadmio (Cd).

El cadmio es un elemento bastante tóxico para el cuer-

po humano. Antiguamente se empleó en amalgamas para empastar muelas, en lugar de utilizar el oro (15).

La cantidad de cadmio que se ingiere es mínima, oscila entre 200 y 400 ugr por día, de los cuales sólo se absorben 3 - ugr diarios; sin embargo, el cuerpo humano contiene de 60 a 400 ugr por 70 Kg de peso; de éstos sólo 24 ugr se localizan en el riñón y de 0.6 a 7.6 ppm. en el esmalte dental (15).

Las sales de cadmio inhaladas, principalmente el  $CdCl_2$ , causan graves efectos a nivel de pulmón, algunas sales se almacenan en el hígado; el  $CdSO_4$  se emplea como antiseborreico.

La concentración tóxica del cadmio ingerido es de 15 - mg; 35 mg ya causan un daño irreversible en el riñón y pulmón.- Se ha observado que una concentración de 20 a 1000 ppm. producen muerte en ratas, conejos y perros, por anemia hipocrómica - (15).

#### Níquel (Ni).

La importancia del níquel está basada en las anomalías producidas en animales de experimentación con dietas que -- contienen bajas concentraciones de níquel, ya que en el humano no se ha comprobado. Se sabe que su deficiencia afecta el metabolismo de lípidos (1).

La cantidad que se ingiere es de 0.30 a 0.60 mg por -- día (1), pero la cantidad absorbida es menor del 10%, conteniendo el cuerpo humano aproximadamente 10 mg/70 Kg de peso (1.63), de los cuales de 0.4 a 270 ppm. se encuentran en la materia - - inorgánica del esmalte dental.

Este elemento fácilmente produce dermatitis y se ha ob

servado que al respirar níquel se aumenta la posibilidad de padecer cáncer (15,63).

#### Aluminio (Al).

Es un elemento generalmente inerte, excepto si se dan dosis muy grandes con las cuales precipitan las proteínas celulares.

Se encuentra presente en los tejidos aproximadamente - en 0.1 mg/100 gr de tejido y en trazas en la composición química del esmalte dental (15,40).

Las soluciones diluidas de sales de aluminio, aplicadas tópicamente, son constrictoras de los vasos sanguíneos. En soluciones concentradas causan precipitación de proteínas y no sólo son astringentes sino antisépticas; esto último ayuda a reducir los olores corporales que en parte se deben a la descomposición bacteriana del sudor. El polvo de aluminio se usa en inhalaciones en el tratamiento de la silicosis, y las hojas finas de aluminio en las quemaduras para facilitar la cicatrización; en forma de  $Al_2(SO_4)_3$  se emplea como antiácido. (40)

Una dosis de 5 a 15 gr/kg de la sal de  $AlCl_3$  produce - daño irreversible en el hígado y riñón (40).

#### Yodo (I ).

La tintura de yodo actúa como antiséptico y germicida de acción rápida, en ausencia de materia orgánica; la mayoría de las bacterias mueren en 1 min en una solución de yodo - - 1:20000, mientras que las esporas lo hacen de 15 min a varias - horas. En la piel, la tintura de yodo al 1% mata al 90% de las bacterias en 1.5 min debido a la propiedad oxidante que po- -

see (23).

El cuerpo humano contiene 11 mg de yodo por cada 70 Kg de peso (63), de los cuales la quinta parte se encuentra en la glándula tiroides y proviene de la ingestión de algunos alimentos que lo contienen; su absorción ocurre en todos los niveles del tracto gastrointestinal y sólo como ion yoduro (16).

Se usa en la desinfección de la piel, heridas y abrasiones. Para las mucosas se emplea una solución acuosa al 1% en glicerina; 3 gotas de tintura de yodo por litro purifican el agua contaminada con amibas y bacterias, sin dejar un sabor desagradable. También actúa como antimicótico (16).

La toxicidad del yodo es muy baja comparada con la potencia germicida; algunas veces causa escozor en la piel hipersensible. Se presenta la muerte con la ingestión de 30 a 250 ml de tintura de yodo, que equivale a 2-3 gr de yodo, y en la intoxicación predominan los síntomas gastrointestinales (16).

#### Ion sulfato ( $SO_4^{2-}$ )

El ion sulfato no atraviesa la membrana celular con facilidad y sus acciones farmacológicas son el resultado de esta impenetrabilidad relativa. Su administración parenteral aumenta la excreción urinaria de calcio. Los sulfatos ingeridos se absorben poco y, por lo tanto, aumentan el agua del intestino y producen diarrea (1).

#### Cloruro ( $Cl^-$ )

El ion cloruro predomina en todos los fluidos del organismo. Se absorbe con gran facilidad por todo el tracto gastrointestinal pasando a la circulación sanguínea, donde las 2/3 -

partes de los aniones presentes en el plasma las constituyen - los cloruros, además de que se encuentran en todas las secreciones corporales. Se elimina fácilmente por orina y sudor. Tiene un gran poder oxidante como  $\text{Cl}_2$  por lo que es un potente bactericida.

### Bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ )

El ion bicarbonato forma la segunda fracción en cantidad de los aniones en el plasma, con 21 a 28 meq/lt. Tiene - funciones importantes como componente del sistema amortiguador - de los fluidos y como forma de transporte del  $\text{CO}_2$  de los tejidos a los pulmones. Cuando en el organismo hay una disminución de este ion, se produce una acidosis metabólica, mientras que - cuando hay un aumento, se presenta una alcalosis metabólica.

TABLA 10

Elemento	Cantidad Ingerida	Cantidad absorbida	Cantidad en el cpq humano	Cantidad tóxica
F	7 ppm	1-2 ppm	2 000 ppm	25 ppm ing.
Ca	200-1500 mg	330 mg	2% del peso corporal	11 gr ing.
Al	10 mg/d	mínima	0.1mg/100gtej.	1-3g/kg peso
Cu	2-5 mg/dfa	2mg/d	100-150 mg/50Kg 140-210 mg/70Kg	25 mg ing.
Zn	10-15 mg/d	mínima	1400-2300 mg/70 Kg	225-450 mg/d 10 gr ing.
Mn	0.3-0.6mg/d	-de0.03	10mg/70Kg	10 mg ing.
Cd	200-400ug/d	3 ug/d	60-4000ug/70	15 mg/d
Fe	18 mg/d	0.5-1.5mg/d	4000-5000 mg/d	50 mg/d

## PARTE EXPERIMENTAL

## I.- MATERIAL

- Tubos de ensaye de 13 X 100
- Tubos de ensaye de 12 X 75
- Matraces Erlenmeyer de 125 ml
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- Matraces Erlenmeyer de 1000 ml
- Matraz aforado de 50 ml
- Matraz aforado de 100 ml
- Pipetas graduadas de 1 ml
- Pipeta para cuenta de glóbulos rojos
- Hematímetro
- Frascos viales de 5 ml
- Frascos ambar de 250 ml
- Frascos con atomizador de 250 ml
- Probeta de 100 ml
- Vaso de precipitados de 250 ml
- Vidrio de reloj
- Cámara para anaerobios
- Embudo con manguera y pinzas de mohr
- Tela de alambre con asbesto
- Soporte universal
- Anillo metálico
- Gradilla para 50 tubos
- Espátula de Nicromo
- Portasa con asa de Nicromo calibrada
- Mecheros Bunsen
- Mecheros Fisher
- Cajas de petri desechables de 100 X 10 mm.
- Discos de papel absorbente para sensibilidad
- Palillos

- Papel pH
- Rollos de algodón absorbente
- Rollos de gasa
- Rollos de maskingtape
- Lápiz graso
- Microscopio

## 2.- EQUIPO

- Autoclave
- Horno
- Incubadora
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Equipo de filtración
- Pinzas Millipore
- Refrigerador

## 3.- REACTIVOS

- Telurito de potasio
- Bacitracina
- Sacarosa
- Manitol
- Sorbitol
- Púrpura de bromocresol
- Cloruro de 2,3,5-trifenil-tetrazolio
- Fosfato monobásico
- Fosfato dibásico
- Hidróxido de aluminio
- Sulfato de aluminio
- Sulfato de cobre
- Cloruro de cobre
- Sulfato de zinc



- Cloruro de zinc
- Cloruro de níquel
- Cloruro de calcio
- Yoduro de Cadmio
- Cloruro férrico
- Cloruro de sodio
- Bicarbonato de sodio
- Yodo
- Acido fosfórico
- Fluoruro de sodio
- Fluoruro de sodio en gel
- Fluoruro de sodio en gel acidulado

#### 4.- MEDIOS DE CULTIVO

- Infusión de Cerebro - Corazón
- Mitis Salivarius Agar
- Agar de Gelatina North
- Caldo Base para Azúcares

#### 5 TECNICAS EMPLEADAS

Las muestras se obtuvieron utilizando aplicadores o hisopos estériles según se tratara de a) incisivos, b) caninos, c) molares y d) saliva, cuyas muestras representan el estudio en cada caso de personas de diferentes edades y sexo, algunas de las cuales presentaban lesiones cariosas en la superficie dental; simultáneamente se les realizaba una encuesta a cerca de la edad y ubicación de su residencia.

Cada una de las muestras fueron colocadas en caldos soporte (Infusión de Cerebro-Corazón) contenidos en tubos perfectamente etiquetados que se incubaron posteriormente a 37°C., durante 18 a 24 hrs.

Una vez transcurrido dicho tiempo, se efectuaron frotis al Gram de cada una de ellas y se sembraron en el medio MSB-agar, asignado a cada paciente una placa dividida en cuatro, de manera tal que contuvieran por separado las muestras a, b, c y d correspondientes.

Después de que las cajas se incubaron a 37°C durante 24 hrs. en baja tensión de oxígeno, se dejaron a temperatura ambiente por 12 hrs. y una vez transcurrido ese tiempo se rociaron, en condiciones asépticas, con una solución de manitol al 10% y se incubaron a 37°C. durante 3 hrs.; posteriormente se rociaron con una solución de cloruro de 2,3,5-trifenil-tetrazolio al 4% y se incubaron nuevamente, durante 1 hr., a 37°C.

Las colonias que presentaron coloración lila o rosa -- (sin ser rojas) fueron escogidas para ser investigadas. Se les efectuó un frotis al Gram con el objeto de verificar su pureza y morfología microscópica (cocos Gram +), se sembraron en caldos que contenían, además del medio base y púrpura de bromocresol, uno solo de los siguientes compuestos: manitol, sorbitol y sacarosa; una vez incubados a 37°C. durante 24 a 48 hrs. (con excepción del medio de sacarosa, al cual se le suministraron condiciones de baja tensión de oxígeno), se discriminaron las cepas que presentaron reacción ácida, sedimento granular en los tres tubos y una pequeña red de fibras adheridas al tubo de caldo sacarosa, ya que éstas son propias de S. mutans.

En seguida se procedió a determinar la sensibilidad o resistencia de los microorganismos identificados como S. mutans frente a las distintas sales.

Para ajustar las concentraciones de los cultivos entre  $1 \times 10^4$  y  $9 \times 10^4$  microorganismos/ml, se efectuó la cuanta de células con un hematímetro, dejando incubar más tiempo o efectuan-

de diluciones con solución salina isotónica en los casos en los que el número no coincidiera con el deseado.

Con una asa calibrada y en área estéril, se sembraron en forma masiva placas con medio de Agar Gelatina de North a -- partir de los tubos que contenían la concentración adecuada de S. mutans. Posteriormente les fueron colocados los discos im-- pregnados de las sales por investigar, asegurándose de lograr -- su contacto completo con la superficie del agar.

Las placas se refrigeraron por 30 min. para permitir-- que los diferentes agentes se difundieran en el agar antes de -- que el desarrollo empezara y después se incubaron a 37°C., du -- rante 16-18 hrs.

Transcurrido ese tiempo se examinaron las placas y se midieron los halos de inhibición mostrados por las diferentes -- sustancias.

Para impregnar los discos se prepararon previamente -- soluciones concentradas de las sales cuyo efecto se deseaba in-- vestigar y una vez que se esterilizaron mediante vapor húmedo, -- se vertieron en condiciones asépticas en frascos viales que con -- tenían 50 sensidiscos cada uno, de tal manera que se impregna -- rán cantidades de 0.02 ml por disco; de esta forma 1.0 ml se -- absorbió completamente y en forma uniforme sin que quedara lí-- quido residual.

Los discos impregnados se mantuvieron en refrigeración hasta 1 hr. antes de realizar las pruebas de sensibilidad. Las -- concentraciones fijadas de esta manera para su investigación, -- fueron las siguientes:

Sal por investigar	Concentración de la sal por sensidisco (ppm)			
$Al(OH)_3$	50			
$Al_2(SO_4)_3$	50			
$CuSO_4$	50	100	200	
$CuCl_2$	50	100	200	
$ZnSO_4$	200	400		
$ZnCl_2$	200	400		
$NiCl_2$	10	100		
$CaCl_2$	100	200		
$CdI_2$	2			
$FeCl_3$	50	100		
$NaCl$	1000			
$NaHCO_3$	1000			
$NaF$	2	200	400	1000
		gel	gel acidulado	
$I_2$	100			
$H_3PO_4$	980			

## RESULTADOS Y ANALISIS

En el presente estudio se trabajaron un total de 400-muestras correspondientes a un número igual de pacientes (294-mujeres y 106 hombres), algunos de los cuales asistían a la Clínica de Pediatría y otros a la sección de Radiografías de la Facultad de Odontología de la UNAM; del número total de pacientes, 136 (94 mujeres y 42 hombres) presentaban caries dentinal fácilmente detectables.

La relación que se presenta entre la existencia de S. mutans con la presencia o ausencia de caries puede deducirse -- tomando en cuenta los datos recopilados en la tabla 1,

Con respecto a las personas que presentaron caries, - los datos muestran que en aproximadamente la mitad de ellas se lograron aislar cepas de S. mutans; considerando que la enfermedad puede tener diferentes orígenes, el alto porcentaje obtenido sugiere que presumiblemente este microorganismo es uno de - los principales agentes etiológicos del padecimiento y que los restantes son casos dependientes de otros factores tales como: - los malos hábitos de higiene bucal, el consumo de ciertos niveles de agua que participan más activamente en el proceso de mineralización de los dientes, la ingestión excesiva de carbohidratos, las características fisiológicas del paciente (como su estado inmunológico, edad, pH de la saliva), etc.

El hecho de que se haya obtenido cifras que muestran una baja incidencia de S. mutans en personas sanas clínicamente, además de que apoya la aseveración anterior, indica que en nuestro medio no se debe incorporar a este microorganismo en la lis

ta de los que constituyen la flora habitual de esta región y -- consecuentemente tampoco entre los oportunistas, pero sí establecer la existencia de un porcentaje bajo de portadores sanos.

Por otro lado, se observa que el número de las personas del sexo femenino que padecían la enfermedad, presentaban una mayor incidencia de S. mutans, lo que ratifica la idea de que el microorganismo puede poseer patogenicidad, porque como la mujer es generalmente más cuidadosa en cuanto a sus hábitos de aseo personal, reduce la probabilidad de que sean los otros factores los que provoquen la enfermedad.

Por lo que toca a la edad, se observa que la incidencia de S. mutans en los casos de caries aumenta en función directa a ella pues es menor en las personas que tienen entre 1 y 15 años ya que en ellos influyen más notoriamente otros factores predisponentes, tales como su tipo de alimentación (que generalmente es muy rica en carbohidratos) y la falta de higiene bucal, que favorecen, el desarrollo de otros microorganismos -- cariogénicos como los pertenecientes a los géneros Actinomyces y Lactobacilos, así como el incremento en la susceptibilidad de los dientes al ataque de los ácidos y el retraso en su mineralización.

Las personas entre 15 y 40 años tienen una mayor incidencia de S. mutans en las lesiones cariosas, ya que muestran generalmente mejores costumbres higiénicas reduciendo con ello algunos de los factores anteriores, y esta incidencia es menor que en los pacientes cuyas edades fluctúan entre 40 y 60 años, si se considera que ya a estas edades el sistema inmunológico no es tan completo.

Por lo que respecta al pH de la saliva, se observa -- que a medida que éste aumenta, disminuye tanto la presencia de-

caries como la incidencia de S. mutans en ellas; esto viene a confirmar por un lado la teoría de que el pH ácido estimula la formación de caries y por otro lado, que S. mutans puede ser un agente etiológico muy importante basándose entre otras características en que es acidúrico, acidófilo y acidógeno, mientras que a un pH neutro o ligeramente alcalino no desarrolla, ni es capaz de acidificar el medio para facilitar el ataque al diente.

Los datos de la tabla 2 indican que S. mutans no es el único agente etiológico de la caries en los molares debido a que estas piezas se sitúan en la parte más profunda de la cavidad -- bucal y presentan una mayor cantidad de criptas y fisuras sobre su superficie, haciendo más difícil su limpieza, hecho que favorece la acumulación de partículas alimenticias que sirven de sustrato para las bacterias fermentadoras que al acidificar el medio facilita así el ataque al esmalte, aunque la capa de éste sea más gruesa, pero por estar más tiempo en contacto con el ácido se hace más sensible, a diferencia de los incisivos, que por encontrarse en la parte anterior de la boca y por tener una superficie lisa su limpieza es mejor, disminuyendo la frecuencia con que los otros factores cariogénicos intervienen en el proceso quedando como único agente etiológico S. mutans.

TABLA 1

Relación del sexo, edad, pH de la saliva con el aislamiento de <u>Streptococcus mutans</u>						
	Con caries	Caries con <u>S. mutans</u>	Sin caries	Sin caries con <u>S. mutans</u>	Incidencia de <u>S. mutans</u> en la Te -- sión cariosa	Inciden -- cia de <u>S. mutans</u> en perso -- nas sin caries
Total de pacientes	136	70	264	36	51.47	13.64
Sexo fem -- e -- nino	94	57	201	29	60.64	14.43
Sexo mas -- culino	42	13	63	7	30.95	11.11
Edad entre 1 y 15 años	89	40	152	24	44.94	17.0
Edad entre 16 y 30 -- años	28	18	84	3	64.23	3.57
Edad entre 31 y 40 -- años	10	7	24	5	70.0	20.83
Edad entre 41 y 60 -- años	8	7	13	2	87.5	15.38
pH salival entre 5-6	14	6	11	5	42.86	45.45
pH salival entre 6.1- 6.3	22	12	33	8	54.54	24.24
pH salival entre 6.4- 6.7	53	33	101	17	62.26	16.83
pH salival entre 6.8- 6.9	30	14	63	3	46.67	4.76
pH salival entre 7.0- 7.1	14	4	31	2	28.57	6.45
pH salival entre 7.2- 7.4	3	0	15	1	0.0	6.67



TABLA 2

Incidencia de <u>Streptococcus mutans</u> en las diferentes piezas dentales				
	Incisivos	Caninos	Molares	Total de casos
Presencia de caries	26	46	100	172
Presencia de <u>S. mutans</u> en caries	23	25	44	92
Presencia de caries sin <u>S. mutans</u>	3	21	56	80
Porcentaje de caries sin <u>S.</u> <u>mutans</u> %	11.54	46.65	56	46.51
Incidencia de <u>S. mutans</u> en caries %	88.46	54.35	44	53.49

En la tabla número 3 se observó que S. mutans es resistente a las siguientes sales:  $Al_2(SO_4)_3$ ,  $NiCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $CdI_2$ ,  $FeCl_3$ , e inclusive al  $NaF$ , el cual tampoco tiene efecto bactericida, explicándose que su acción puede ser bacteriostática, ya que aquel microorganismo es capaz de almacenar cantidades grandes de este anión sin que se altere su metabolismo; además de que el  $F^-$  es capaz de originar un complejo estable con la hidroxiapatita aumentando la dureza del esmalte y con ello la resistencia al ataque de los ácidos; por este motivo no se tomó como patrón de inhibición a este compuesto, pero sí al  $H_3PO_4$  por ser el que tiene el efecto inhibitorio en el gel de fluoruro de sodio aruglada empleado por los odontólogos.

Las sales de  $CuCl_2$ ,  $CuSO_4$ ,  $ZnCl_2$ ,  $NaHCO_3$  y el compuesto yodo yodurado, tienen un poder bactericida mayor o igual al efecto que presenta el  $H_3PO_4$  sobre este microorganismo, de donde se observa que entre los cationes estudiados fue notorio el efecto bactericida del cobre y en menor grado el del zinc y entre los aniones, el  $Cl^-$  tiene mayor efecto inhibitorio que el  $SO_4^{2-}$  ya que a bajas concentraciones de estos aniones con el mismo catión no tienen igual efecto, lo cual posiblemente se deba a la poca penetrabilidad celular que posee este ion.

Se hace mención que las sales  $Al(OH)_3$ ,  $NaCl$ ,  $ZnSO_4$ ,  $ZnCl_2$  (sólo a bajas concentraciones), tuvieron un efecto bactericida muy pequeño, menor del que presenta el  $H_3PO_4$  y que sólo un porcentaje bajo de las cepas estudiadas fueron sensibles a estas sales.

TABLA 3

Efectos que mostraron los compuestos investigados sobre el desarrollo "in vitro" de las 193 cepas identificadas como <u>Streptococcus mutans</u> .					
Sal investigada	Concentración ppm.	Número de cepas resistentes	Porcentaje de cepas resistentes	Número de cepas sensibles	Porcentaje de cepas sensibles
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	980	0	0	193	100.0
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	50	193	100.0	0	0
CdI <sub>2</sub>	2	193	100.0	0	0
CaCl <sub>2</sub>	100	193	100.0	0	0
CaCl <sub>2</sub>	200	193	100.0	0	0
CaCl <sub>2</sub>	50	0	0	193	100.0
CuCl <sub>2</sub>	200	0	0	193	100.0
CuSO <sub>4</sub>	50	193	100.0	0	0
CuSO <sub>4</sub>	100	0	0	193	100.0
CuSO <sub>4</sub>	200	0	0	193	100.0
FeCl <sub>3</sub>	50	193	100.0	0	0
FeCl <sub>3</sub>	100	193	100.0	0	0
I <sub>2</sub>	100	0	0	193	100.0
WCl <sub>2</sub>	10	193	100.0	0	0
WCl <sub>2</sub>	100	193	100.0	0	0
NaHCO <sub>3</sub>	1000	0	0	193	100.0
NaF	2	193	100.0	0	0
NaF	100	193	100.0	0	0
NaF	200	193	100.0	0	0
NaF	400	193	100.0	0	0
NaF	gel	193	100.0	0	0
NaF	gel acidulado	193	100.0	0	0

## CONCLUSIONES

- Streptococcus mutans es uno de los principales agentes etiológicos del proceso carioso, aunque es capaz de colonizar y establecerse en bocas sanas sin causar daño alguno.
- La intervención de S. mutans en este tipo de lesión:
  - a) es mayor en el sexo femenino que en el masculino.
  - b) es baja en sujetos menores de 15 años, donde los otros factores cariogénicos la favorecen.
  - c) es directamente proporcional a la edad del individuo.
- Este microorganismo no es capaz de desarrollar a un pH neutro o ligeramente alcalino, ya que se encuentra con mayor frecuencia en bocas cuyo pH salival es menor de 6.4, debido a que es un microorganismo acidófilo, acidúrico y acidógeno.
- La incidencia de S. mutans en el desarrollo de la caries es menor en los molares que en los incisivos.
- Las sales de  $Al_2(SO_4)_3$ ,  $NiCl_2$ ,  $CdI_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $FeCl_3$  y  $NaF$  no tienen ningún efecto en contra de S. mutans, mientras que las sales de  $CuSO_4$ ,  $CuCl_2$ ,  $ZnCl_2$ ,  $NaHCO_3$ , poseen un efecto bactericida sobre el desarrollo in vitro de este microorganismo a una concentración que no es tóxica para el humano.

## ANEXO A

## PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

Mitis Salivarius Agar - Telurito - Bacitracina. MSB.

- Fórmula en granos por litro de agua destilada:

Triptosa .....	10.0
Proteosa peptona No. 3 .....	5.0
Proteosa peptona .....	5.0
Dextrosa .....	1.0
Sacarosa .....	50.0
Fosfato dipotásico .....	4.0
Azul tripán .....	0.075
Cristal violeta .....	0.0008
Agar .....	15.0
pH	7

- Preparación.- Se disuelve la cantidad requerida del medio - (95 gr/l) deshidratado en agua destilada, adicionándole 150-grs. más de sacarosa. Se calienta hasta disolución completa del medio y se esteriliza en autoclave a 15 lb de presión -- durante 20 min. Se deja enfriar a 40-45°C. y en condiciones asépticas se añaden 1.0 ml de una solución estéril de telurito de potasio al 1% y 1 ml de una solución de bacitracina -- conteniendo 0.2 U/ml, agitar bien y distribuir en las cajas-Petri desechables, dejar solidificar y refrigerar.

### Agar Gelatina de North

- Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Infusión de carnero .....	500.0
Proteosa peptona .....	20.0
Gelatina .....	20.0
Amidón soluble .....	10.0
Caseína isoeléctrica .....	2.0
Cloruro de sodio .....	5.0
Agar .....	15.0
pH 7	

- Preparación.- Se disuelve la cantidad requerida del medio -- deshidratado (77g/l) en agua destilada, se calienta hasta disolución completa. Se esteriliza 20 min. a 15 lb. de presión- (121°C.). Se deja enfriar y cuando adquiere una temperatura- de 45°C. se vierte en cajas Petri desechables, se deja solidi- ficar y se refrigeran hasta su uso.

### Infusión de Cerebro - Corazón

- Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Infusión de cerebro de ternera .....	200.0
Infusión de corazón de res .....	250.0
Peptona .....	10.0
Cloruro de sodio .....	5.0
Fosfato disódico .....	2.0
Dextrosa .....	2.0

- Preparación.- Se suspende el material deshidratado en agua - destilada (36.8 g/l), se distribuye en tubos de ensayo de --- 13 X 100 <sup>+</sup> 2.5 ml en cada uno, se tapan con algodón y gasa, -

se esterilizan a 121°C. y 15 lb. de presión durante 20 min.

### Base Caldo Púrpura

- Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Peptona .....	10.0
Cloruro de sodio .....	5.0
Púrpura de bromocresol .....	0.02
Carbohidrato .....	5.0-10.0
pH 6.8	

- Preparación.- Se suspende el medio deshidratado en agua destilada (20 g/l). Se distribuye en tubos de ensayo de 12 X - 75, se tapan con algodón y gasa y se esterilizan a 121°C., - 15 lb de presión, durante 20 min.

## ANEXO B

Normas o consideraciones generales para el procedimiento de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana con discos, tal como se hace en los laboratorios clínicos.

Desde hace casi tres decenios, los microbiólogos emplean discos de papel para determinar si un cultivo es o no susceptible a un agente antimicrobiano.

Las pruebas de susceptibilidad tienen por objeto establecer en qué medida el microorganismo infectante in vitro, es decir, separado del complejo de factores clínicos, patológicos y farmacológicos que intervienen en la determinación de la respuesta del huésped, es sensible a los agentes antimicrobianos, tomando como base algunas consideraciones para obtener resultados lo más cercano a la realidad:

## CARACTERISTICAS DEL MEDIO DE AGAR

1) Un contenido definido, por lo menos en los detalles específicos de su producción, para componentes crudos como peptona y agar.

2) Los resultados de las pruebas de susceptibilidad deberán poder reproducirse con distintos lotes del medio preparado por diferentes fabricantes.

3) El medio no enriquecido deberá permitir el desarrollo de la mayoría de los patógenos para los que se requieren pruebas de susceptibilidad.



4) El medio no deberá contener componentes que se sabe antagonizan los agentes comunes para los que se hacen las pruebas de susceptibilidad.

5) El medio no debe estar sujeto a importantes variaciones de pH, en particular hacia el lado ácido, durante el desarrollo de los microorganismos patógenos comunes.

6) El medio deberá ser más o menos isotónico y apto para la adición de sangre, cuando ésta se requiera para el desarrollo de microorganismos difíciles o exigentes.

#### ALMACENAMIENTO DE DISCOS

Los frascos viales que contienen los discos de papel-filtro para pruebas de susceptibilidad impregnados con el agente antimicrobiano, deberán ser refrigerados a 10°C. para mantener su estabilidad. Los recipientes sin abrir se retiran del refrigerador una o dos horas antes de usar los discos para que se equilibren con la temperatura ambiente y reducir al mínimo la condensación que ocurrirá al entrar aire templado de la habitación a los recipientes.

#### INOCULO

La cantidad de microorganismos por unidad de volumen de inóculo, influye mucho sobre los resultados de las pruebas de difusión con agar; el inóculo deberá ser de magnitud suficiente para captar la presencia de mutantes hacia la resistencia y para que los resultados sean representativos de las poblaciones presentes en las lesiones clínicas de importancia, tomando en cuenta que existe una relación inversa: a mayor cantidad de microorganismos en el inóculo, más pequeña es la zona de inhibición.

Además, el tiempo de desarrollo de las bacterias dentro de los límites de tiempo utilizados en este estudio, también influye sobre las diferencias registradas en los diámetros de los halos de inhibición.

#### Temperatura de incubación, pH del medio y aereación

Deben aproximarse a valores fisiológicos, es decir, -- incubarlos a temperatura entre 35° y 37°C. y con un pH del medio de cultivo cercano a la neutralidad 7.2-7.4. No debe incubarse en condiciones anaerobias debido a que bajo estas circunstancias se altera el pH del medio y consecuentemente el halo de inhibición, que generalmente es más grande.

#### Lectura e interpretación

La lectura del punto final de la zona de inhibición -- depende de la agudeza visual del observador y no debe de realizarse con luz transmitida. Para la interpretación se consideran varios factores: a) la concentración mínima inhibitoria del microorganismo infectante b) distribución de las sensibilidades dentro de las especies microbianas (sensibles y resistentes, mutantes y recombinantes).

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Anderson; Bendish; Chance, Remington's Pharmaceutical - - Science, 15 th. ed., Mack Publishing Co., 1975.
- 2.- Arias, Cayeros A. Dr. 1980. Hidratos de Carbono y la Caries Dental, Revista A.D.M., 37:91-94.
- 3.- Balekjian, A.Y.; J.S. Cole III; M.S. Guidry. 1977. Plaque - formation by Streptococcus mutans: An in Vitro Method - for Quantitative Determination. J. Dent. Res. 56:596.
- 4.- Balows, Albert, Pruebas de susceptibilidad a los antibióti - cos, Técnicas Actualizadas, Editorial Médica Panamerica - na, 1976.
- 5.- Bammann, L.L.; R.J. Gibson. 1979. Inmunoglobulin A. Anti - bodies Reactive with Streptococcus mutans in Saliva of Adults, Children and Pre dentate Infants. J. Clin. Mi - crib. 10:538-543.
- 6.- Bayona, González A. Dr.; Bartelt; Stoelting, 1981. Alternan - cia Bioquímica de la Placa. Revista A.D.M. 38:170-172.
- 7.- Bayona, González A. Dr.; C.J. Trejo. 1970. Ataque Poli En - zimático a la Placa Dentobacteriana. Rev. A.D.M. 38: - 173-178.
- 8.- Berry, C.W.; C.A. Henry. 1975. The Influence of Adsorption - on the Metabolism of S. mutans and S. sanguis. A.A.D.R. Abstracts No. 229.

- 9.- Brown, L.R.; S.F. Handler, 1980. Effect of Sodium Fluoride on The Viability and Growth of S. mutans. J. Dent. - - Res. 59:159-167.
- 10.- Cook, W.S.; S. Penter. 1975. Effect of Trace Elements on Acid and Plaque Formation. A.A.D.R. Abstracts No. 117
- 11.- Cowman, R.A.; R.J. Fitzgerald. 1975. Effects of Oral Streptococci on Electrophoretic Properties of Human Salivary Anionic Proteins. J. Dental Research, 54:298-304.
- 12.- De Lorenzo, José Luis. 1981. Aspectos inmunológicos de la Enfermedad Periodontal. Rev. A. D. M. 38:188-192.
- 13.- De Lorenzo, José Luis.; Mendes, de Campos; Alves de Silva, 1981. Fenómenos de la Antibiosis en la Microbiota Bucal. Rev. A. D.M. 38:144-146.
- 14.- Devine, L.F.; T.P. Mooshegian; L.L. Shklair. 1977. An Improved Selective Medium for the Isolation of S. mutans- A.A.D.R. Abstracts No. 77.
- 15.- Di Palma, M.D. Drill's, Pharmacology in Medicine, 4th Ed., Mc Graw Hill Book Company, 1971.
- 16.- Discher, Clarence A., Química Inorgánica Farmacéutica, Editorial Alhambra. 1978.
- 17.- Donoghue, Helen D.; J.E. Tuler. 1975. Antagonisms Amongst Streptococci Isolated from the Human Oral Cavity. - - Archs. Oral Biol. 20:381-387.
- 18.- Doyle, J.J.; R.T. Marshall; W.H. Fander. 1975. Effects of Cadmium on the Growth and Uptake of Cadmium by Microor

- ganisms. Applied Microbiology, 29:562-564.
- 19.- Duchin, S.; J. Van Houtle. 1978. Colonization of Teeth in Humans by S. mutans as Related to its Concentration in Saliva and Host Age. Infection and Immunity, 20:120-125.
- 20.- Duchin S.; J. Van Houtle. 1978. Relationship of S. mutans and Lactobacilli to Incipient Smooth Surface Dental Caries in Man. Archs Oral Biol. 23:779-786.
- 21.- Ellen, R.P.; E.D. Fillery; D.W. Banting. 1980. Comparison of Selective Broth and Plating Methods for Isolation of S. mutans from Root Surface Dental Plaques. J. Clin. Microb. 11:205-208.
- 22.- Emilson, C.G.; D. Bratthall. 1976. Growth of Streptococcus mutans on Various Selective Media. J. Clin. Microb. -- 4:95-98.
- 23.- Esponda, Villa Rafael, Anatomía Dental, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Odontología, México, 1978.
- 24.- Facklam, Richard R. 1977. Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. J. Clin. Microb. 5:184-201.
- 25.- Farill, Guzmán. Dr. 1980. Fluoración en el Agua. Revista-A.D.M. 37:50-56.
- 26.- Fujiwara, Satoko; S. Kobayashi; H. Nakayama. 1978. Development of a Minimal Medium for Streptococcus mutans. - - Archs. Oral Biol. 23:601-602.

- 27.- Gallagher, I.H.C.; T.W. Cutres. 1977. The Effect of Trace-Elements on The Growth and Fermentation by Oral Streptococci and Actinomyces. Archs. Oral Biol. 22:555-562.
- 28.- Garcia, Martínez José Luis Dr. 1980. Efecto de la Dieta sobre la Formación del Sarro. Revista A.D.M. 37:85-88.
- 29.- Gedalia, I.; J. Anaise; E. Laufer. 1975. Effect of Prenatal, Preeruptive and Posteruptive Strontium Administration on Dental Caries in Hamster Molars. J. Dent Res.-54:1240.
- 30.- Globerman, D.Y.; I. Kleinberg. 1975. Oxygen Levels in Human Dental Plaque and Saliva. A.A.D.R. Abs. No. 119.
- 31.- Gorlin, R.J., H.M. Goldman. Thoma. Patología Dental. Editorial Salvat. 2°. Reimpresión. 1979.
- 32.- Ham, Arthur W., Tratado de Histología. 7°. Ed. Interamericana. 1975.
- 33.- Hamada, Shigeyuki; Hutton Slade. 1980. Biology, Immunology and Cariogenicity of Streptococcus mutans. Microbiol. Rev. 44:331-348.
- 34.- Hamada, Shigeyuki; Norio Masuda; Shozokotani. 1980. Isolation and Serotyping of Streptococcus mutans from Teeth and Feces of Children. J. Clin. Microbiology, 11:314-318.
- 35.- Hamada, Shigeyuki; Norio Masuda. 1979. Some Biological Properties of Streptococcus mutans Isolated from Human Mouth with Reference to the Correlation with Serotype. Archs Oral Biol. 24:627-631.

- 36.- Hamilton, I.R.; D.C. Ellwood. 1978. Effects of Fluoride on Carbohydrate Metabolism by Washed Cells of Streptococcus mutans Grown at Various pH Values in a Chemostat.- Infection and Immunity, 19:434-441.
- 37.- Harald A.B.L. 1977. New Medium for the Isolation of Streptococcus mutans and Its Differentiation from Other - - Oral Streptococci. J. Clin. Microb. 5:604-609.
- 38.- Henry, C.A.; C.W. Berry. 1977. Effect of Defined Anaerobiosis on Growth Rates of Streptococcus mutans. A.A.D.R. No. 151.
- 39.- Herbison, Richard; S. Handelman. 1975. Effect of Trace Elements on Dissolution of Hydroxyapatite by Cariogenic - Streptococci. J. Dental Research, 54:1107-1114.
- 40.- Hidalgo y Mondragón. Farmacia Química. Ed. Alhambra. 1979.
- 41.- Huerta, Miranda Jorge Dr. 1981. Microbiología de la Caries Dental Rev. A.D.M. 38:149-152.
- 42.- Ikeda, T.; T. Shiota; Hirasawa. 1977. Inhibition of Virulence Factors of Streptococcus mutans by Coupling Sugar. A.A.D.R. Abstracts No. 16.
- 43.- Ikeda, T.; Shiota; Mc Ghee; Otake. 1978. Virulence of Streptococcus mutans: Comparison of the Effects of a Coupling Sugar and Sucrosa on Certain Metabolic Activities and Cariogenicity. Infection and Immunity, 19:477-480.

- 44.- Iwami, Y.; T. Yamada. 1980. Rate Limiting Steps of the Glycolytic Pathway in the Oral Bacteria Streptococcus mutans and Streptococcus sanguis and the Influence of Acidic pH on the Glucose Metabolism. *Archs. Oral Biol.* 25:163-169.
- 45.- Keene, Kirk; Hoerman; Shklair. 1972. The Association of -- Streptococcus mutans with Early Carious Lesions in Human Teeth. *JADA*, 85:1349-1352.
- 46.- Kemp, C.W., S. Robrish; G. Rolla. 1977. Adsorption of - - Streptococcus mutans and Streptococcus sanguis to Hydroxiapatite Particles A.A.D.R. Abstracts No. 14.
- 47.- Litle, W.A.; D.C. Korts; Thomson, W. Bowen. 1977. Comparative Recovery of Streptococcus mutans on ten Isolation Media. *J. Clin. Microbiology*, 5:578-583.
- 48.- Litle, W.A.; Thomson; W.H. Bowen. 1977. The Antibiotic Susceptibility of Streptococcus mutans: A Comparison of - Serotype Profiles A.A.D.R. Abstracts. No. 142.
- 49.- Loesche, W.J.; M.L. Svanberg. 1979. Intraoral Transmission of Streptococcus mutans by a Dental Explorer. *J. Res.* - 58:1765-1770.
- 50.- Longton, R.W.; A.Y. Balekjian. 1977. Reduction of Streptococcus mutans. Adhesion with Maltosa, Lactosa and - - Sucrosa. A.A.D.R. Abstracts, No. 17.
- 51.- Masuda, N.; Tsutsumi; Sobue. 1979. Longitudinal Survey of the Distribution of Various Serotype of Streptococcus mutans in Infants. *J. Clin. Microb.* 10:497-502.



- 52.- Mc. Carron, R.M.; Y.F. Chang, 1977. Sucrosa and Amino Acid Effect on Plaque Polisaccharides in Streptococcus mutans A.A.D.R. Abs. No. 264.
- 53.- Mc. Ghee, J.; Suzanni Michalek. 1981. Immunobiology of Dental Caries: Microbial Aspects and Local Immunity. Ann. Rev. Microbiol. 35:595-638.
- 54.- Moriarty, John. 1981. Periodontal Disease Update. Clinical Microbiology Newsletter. 3:71-73.
- 55.- Mychajlonka, M.; G.D. Shockman. 1977. Effect of Penicillin on Growth Macromolecular Synthesis and Viability in Streptococcus mutans. A.A.D.R. Abs. No. 148.
- 56.- Nolte, A. William Dr. Microbiologia Odontológica. Editorial Interamericana. 1971.
- 57.- Olsson, J.; P.O. Glantz. 1977. Effect of pH and Counter Ions on the Zeta-Potential of Oral Streptococci. Archs Oral Biol. 22:461-466.
- 58.- Pape, H.R. Jr.; G.T. Charbeneau, Loesche. 1975 Efect on Streptococcus mutans of Titanium Tetrafluoride in Amalgam Restorations. A.A.D.R. Abs. No. 336.
- 59.- Ruby, J.D.; M. Goldner; J.A. Hargreaves. 1978 Streptococcus mutans: An Assessment of its Physiological Potential in Relation to Dental Caries. Rev. Can. Rio. 37:273-290.
- 60.- Russell, and Coulter. 1975. Continuous Monitoring of pH and Eh in Bacterial Plaque Grown on a Tooth in an Artificial Mouth. Applied Microbiology. 29:141-144.

- 61.- Schachtele, C.F.; Moon Lam; S. Leung. 1975. Effect of Sugar Analogues on Growth, Sugar Utilization and Acid Production by Streptococcus mutans. Dent Research, 54:433--441.
- 62.- Schoen, M.H.; J.R. Freed. 1981. Prevention of Dental Disease: Caries and Periodontal Disease. Ann. Rev. Public Health, 2:71-92.
- 63.- Schroeder, H.A.M.D. The Poisons Around us Toxic Metals -- in Food, Air and Water, Indiana University Press, 1974.
- 64.- Setterstrom, J.A.; A. Gross. 1977. Comparison of Micro-method Systems with Conventional Media for Identification of Oral Streptococci. A.A.D.R. Abs, No. 141.
- 65.- Setterstrom, J.A.; A. Gross. 1977. Comparison of Minitek - and Conventional Methods for the Biochemical Characterization of Oral Streptococci. J. Clin. Microb. 10:409-414.
- 66.- Shkair, I.L.; R.G. Walter; B.L. Lamberts. 1977. The - - Effect of Sodium Fluoride on the Extracellular Glucan - Production of Streptococcus mutans. A.A.D.R. Abs, No. - 147.
- 67.- Smith, A.E.; R.A. Kolstad, 1975. Rapid Strain Typing of -- S. mutans. A.A.D.R. Abs, No. 338.
- 68.- Staat, Robert H. 1976. Inhibition of Streptococcus mutans-Strains by Different Mitis - Salivarius Agar Preparations. J. Clin. Microbiology. 3:378-380.

- 69.- Stephan, Robert. 1940. Changes in Hydrogen Ion Concentration on Tooth Surfaces and in Carious Lesions. JADA, - 27:718-723.
- 70.- Svanberg, M.L.; W.J. Loesche. 1978. Implantation of Streptococcus mutans on Tooth Surface in Man. Arch Oral -- Biol. 23:551-556.
- 71.- Svanberg, M.L.; M.L. Loesche. 1977. The Salivary Concentration of Streptococci mutans and Streptococci sanguis - and their Colonization of Artificial Tooth Fissures in Man. Arch Oral Biol. 22:441-447.
- 72.- Tortora, Gerard J.; Amagnostakes. Principios de Anatomia y Fisiologia. Editorial Harla. 1977.
- 73.- Van Houtle, J.; R. Aasenden; T.C. Peebles. 1978. Oral Co--lonization of Streptococcus mutans in Human with Sub--jects with low Caries, Experince Give Fluoride Supple--ments from Birth. Arch. Oral Biol. 23:361-366
- 74.- Walter, R.G.; L.L. Shklair; B.L. Lamberts. 1977. Glucan -- Production by Human Isolated and Laboratory Strains of Streptococcus mutans. A.A.D.R. Abs. No. 146.
- 75.- Woolfolk, W.P.; Loesche; Bradbury. 1975. Effect of Topical Kanamycin Gel on the Levels of Streptococcus mutans in Rampant Caries. A.A.D.R. Abs. No. 335.